

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

Valoración por resonancia magnética de un modelo experimental para el estudio de la degeneración articular.

Desarrollo y validación de una nueva escala para la valoración de la degeneración articular inducida en la oveja

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Joaquín Moya-Angeler Pérez-Mateos

Directores

Francisco Forriol Campos
Javier Vaquero Martín

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

Valoración por Resonancia Magnética de un Modelo

Experimental para el Estudio de la Degeneración Articular

Desarrollo y Validación de una Nueva Escala para la Valoración de

la Degeneración Articular Inducida en la Oveja

D. Joaquín Moya-Angeler Pérez-Mateos

Mayo de 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

Valoración por Resonancia Magnética de un Modelo

Experimental para el Estudio de la Degeneración Articular

Desarrollo y Validación de una Nueva Escala para la Valoración de

la Degeneración Articular Inducida en la Oveja

D. Joaquín Moya-Angeler Pérez-Mateos

Directores:

Prof. Francisco Forriol Campos

Prof. Javier Vaquero Martín

Mayo de 2014

INFORME DEL DIRECTOR/ES DE LA TESIS	
Nombre Francisco Forriol Campos	D.N.I. 19460896K
Centro Universidad San Pablo CEU	
Nombre Javier Vaquero Martín	D.N.I. 2103504V
Centro Hospital Universitario Gregorio Marañón	
Nombre	D.N.I.
Centro	

EVALUADORES ESPECIALISTAS EN LA MATERIA	
Nombre Luis Fernandez Portal	D.N.I. 12103228F
Centro Hospital Universitario San Carlos	
Nombre Ricardo Sanchez Hidalgo	D.N.I. 14310114
Centro Hospital FREMAP Majadahonda	

APROBACIÓN DEL DEPARTAMENTO/COMISIÓN RESPONSABLE DEL PROGRAMA DE POSTGRADO (3)	
<p>A la vista de los Informes emitidos por los Directores de la Tesis, así como los Informes de los especialistas Indicados en los apartados anteriores, se autoriza la admisión a trámite de la Tesis Doctoral, enviándose a esa Comisión de Doctorado, para la designación y nombramiento del Tribunal, dando conformidad a la siguiente documentación que se adjunta:</p> <ul style="list-style-type: none"> * Informe del cumplimiento de los criterios establecidos para garantizar la calidad de la tesis. * Informes favorables de los especialistas Indicados. * Informe del Director/res de la Tesis Doctoral. * Informes de Idoneidad de cada uno de los miembros del tribunal de la propuesta realizada. 	
Fecha _____	Fdo: _____
<p>Este apartado únicamente deberá cumplimentarse cuando corresponda</p> <div> <input type="checkbox"/> FORMATO PUBLICACIONES <input type="checkbox"/> AUTORIZACIÓN PRESENTACIÓN EN OTRO IDIOMA </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/> MENCIÓN EUROPEA <input type="checkbox"/> SE AUTORIZA LA ACTUACIÓN DE VOCALES (MÁXIMO 2) POR VIDEOCONFERENCIA </div>	
Conforme: _____	Fdo: _____



La Tesis Doctoral de D. Joaquín Moya Angeler, titulada " Un modelo experimental para el estudio de la degeneración articular", cumple los requisitos de Calidad

El tema del presente estudio es de gran trascendencia en la actualidad por la elevada morbi-mortalidad que comporta esta patología.. Por este motivo el planteamiento de nuevas y más eficaces alternativas terapéuticas en ésta patología y su ensayo previo en animales de experimentación, abre un esperanzador futuro para ésta enfermedad.

En la Introducción se actualiza éste tema con una bibliografía que recoge los trabajos clásicos, así como las últimas publicaciones científicas, tanto sobre la fisiopatología como de las terapias correspondientes. La hipótesis y los objetivos del trabajo son claros y concisos.

El Material y Métodos se caracteriza por su rigor metodológico, dada la complejidad del trabajo. El diseño experimental es correcto y está suficientemente explicado como para permitir reproducir los experimentos y las técnicas utilizadas en el trabajo a otros investigadores.

Los Resultados de éste estudio permiten verificar la hipótesis de Investigación y se exponen con gran claridad, incluyéndose numerosas Tablas y Figuras que permiten una comprensión clara de los principales resultados. Finalmente, en la Discusión se integran todos los datos obtenidos tras el estudio de las alteraciones que comporta esta patología.

Las Conclusiones obtenidas en éste estudio son de gran interés porque demuestran la utilidad de los presentes resultados en la clínica humana. La importancia de éste trabajo de investigación se fundamentaría por tanto en que sus resultados permiten, en primer lugar un mejor conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos implicados en su producción, además supone una esperanzadora opción terapéutica para los pacientes que sufren esta enfermedad .

Por todas las razones expuestas considero que este trabajo de investigación es de indudable valor en el campo de la cirugía y que puede optar su autor a la obtención del Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Madrid, de 2014

Prof. Jaime Arias Pérez
Director del Departamento de Cirugía

COMISIÓN DE DOCTORADO
UCM

A mi Familia que me ha hecho como soy y me ha dado lo que tengo,

AGRADECIMIENTOS

Estas líneas reflejan mi profundo agradecimiento a todas las personas que han contribuido a mi desarrollo personal y profesional.

A los profesores Francisco Forriol y Javier Vaquero que siempre han estado “al pie del cañón” por su dirección, apoyo, experiencia investigadora y por su amistad.

A los Dres. Ripoll y de Prado responsables de muchas de las cosas que me han pasado, amigos que siempre han confiado en mí.

Al Prof. José Rodríguez-Altónaga, de la Facultad de Veterinaria, de la Universidad de León por las facilidades dadas para la cirugía y mantenimiento de los animales y a Purificación Ripalda, de la Universidad de Navarra, que al final tuvo que hacer las preparaciones histológicas.

A mis compañeros del Hospital FREMAP de Majadahonda, especialmente a los doctores Gutiérrez, Delgado Serrano, Pitillas, García Delgado, García López, Roger y Studer, a los residentes de mi época que siempre me han apoyado, los Dres. Sánchez Hidalgo, Martínez de Albornoz, Ferrón y Rodríguez y García Villanueva.

A Bioibérica por ser este estudio parte de una Beca Hyalgan, concedida en 2011.

Sin embargo, mis primeros maestros fueron mis padres, ejemplo para mí, me han ayudado a elegir el camino adecuado en situaciones complicadas, sobre todo en la difícil etapa de la adolescencia. Han sabido transmitirme valores fundamentales que marcan mi vida y, ahora, junto con mis hermanas, Marta y Paloma, son un pilar fundamental y un gran impulso para continuar mi camino, aunque este me lleve lejos de ellos.

Gracias a todos.

RESUMEN

Hipótesis

La lesión de las diferentes estructuras articulares de la rodilla de la oveja producen un mayor o menor grado de degeneración articular en el tiempo permitiendo establecer modelos experimentales adecuados según los proyectos de investigación sobre la degeneración y reparación del cartílago articular a realizar.

Objetivos

- Estudiar las alteraciones articulares que producen diferentes modelos experimentales de degeneración articular en la rodilla (meniscectomía total, lesión del LCA, lesión longitudinal del menisco y meniscectomía con sección del LCA) en la oveja y establecer los diferentes modelos degenerativos mediante el estudio por imagen e histológico de las muestras procesadas.
- Establecer y validar un sistema de valoración por RM de la degeneración articular inducida en la rodilla de la oveja para su estudio no invasivo.
- Establecer una relación entre las lesiones macro y microscópicas con la imagen con RM.

MATERIAL Y METODO

Diseño del proyecto

Utilizamos veinte ovejas hembra, de raza merino, de 3 años de edad con un peso entre 35 y 45 kg. No presentaban ninguna enfermedad o lesión que impidiera el desarrollo del estudio. Las ovejas permanecieron alojadas en grupo, alimentadas con una dieta estándar y agua ad libitum. Fueron divididas en cuatro grupos de cinco ovejas cada uno. El estudio fue aprobado por la Comisión de Experimentación Animal de la Facultad de Veterinaria, de la Universidad de León, y se siguieron las recomendaciones de experimentación animal.

Todos los animales fueron intervenidos de su rodilla izquierda y según la técnica realizada se agruparon de la siguiente manera: Grupo 1 (n=5) seccionamos el ligamento cruzado anterior (LCA) completamente. Grupo 2 (n=5) generamos una lesión en asa de cubo en el menisco interno. Grupo 3 (n=5) seccionamos el LCA y resecamos el

menisco interno en su totalidad. Grupo 4 (n=5) resecamos el menisco interno con cuidado de no lesionar la cápsula articular.

Los animales llegaron al animalario una semana antes de su operación para su adaptación a las nuevas condiciones ambientales. A su llegada al recinto, fueron esquilados y desparasitados, y dos días antes de la operación permanecieron en ayuno y con poca agua. El día anterior a la intervención, se lavaron con jabón antiséptico y se procedió a su secado con estufas de aire caliente.

Técnica Quirúrgica según los Grupos

La técnica quirúrgica fue muy similar en todos los grupos. A través de una incisión pararrotoiana interna, de unos 7-10 cm de longitud, realizamos una artrotomia medial, luxando la rótula hacia afuera para exponer la articulación fémoro-tibial, limpiando el paquete adiposo intraarticular y teniendo especial cuidado de no dañar las partes blandas. Posteriormente, se procedió a lesionar alguna estructura determinada de forma aleatoria, para provocar la degeneración articular según los grupos: Grupo 1 (n=5) sección completa del ligamento cruzado anterior (LCA) con bisturí; Grupo 2 (n=5) producción de una lesión en asa de cubo en el menisco interno; Grupo 3 (n=5) sección completa del LCA y resección completa del menisco interno y Grupo 4 (n=5) resección del menisco interno con cuidado de no lesionar la cápsula articular ni la superficie de cartílago. Tras la cirugía suturamos por planos con especial cuidado de evitar la luxación de rótula en el postoperatorio. La piel se cerró con grapas y tras la aplicación de un antiséptico cutáneo se hizo un vendaje compresivo. Las ovejas no sufrieron ningún tipo de inmovilización tras la cirugía.

Todos los animales se sacrificaron a las 8 semanas de la intervención. No hubo motivos para excluir ninguna oveja del estudio por lo que al finalizar el periodo de seguimiento (2 meses) se sacrificaron todos los animales.

Previo al sacrificio se realizaron radiografías (proyecciones antero - posterior y lateral) y RM de la rodilla afectada (Siemens Trio 3T), en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León. Tras la muerte del animal extrajimos la rodilla intervenida conservándolas en una solución de formaldehído (HCHO, PM 30,30) al 40%. Transcurridos 7 días se realizaron fotografías de todas las muestras y posteriormente se corta-

ron en piezas más pequeñas para comenzar la decalcificación con EDTA y realizar el posterior procesamiento y estudio histológico.

Desarrollo de la Escala de Valoración sMOAKS

Adaptamos la escala MOAKS a nuestro estudio y a las condiciones de la anatomía de la rodilla de la oveja denominándola sheep-MOAKS (sMOAKS). Excluimos la valoración de la afectación del menisco, ligamentos y tendones ya que estas estructuras fueron lesionadas de forma intencionada para inducir la degeneración de la articulación. La valoración del grado de afectación articular se realizó mediante el estudio de cinco estructuras independientes: cartílago articular, lesión de la médula ósea y quistes, osteofitos y sinovitis en el paquete adiposo de Hoffa, en 12 sub-regiones articulares.

Tras una sesión de formación inicial con una serie de ejercicios de entrenamiento para mejorar el calibrado y asegurar la fiabilidad de las valoraciones de la escala dos observadores desconocedores de los grupos (evaluación ciega) valoraron de forma independiente 17 de las 20 rodillas (las ovejas 1, 9 y 14 fueron excluidas por presentar luxada la AFP en las imágenes de resonancia magnética). Estos utilizaron todas las imágenes disponibles realizando la valoración definitiva en el mismo corte de RM. Las regiones de estudio en la rodilla fueron determinadas independientemente por cada uno de los lectores. Los resultados de las valoraciones fueron anotados en plantillas y posteriormente pasados a una hoja de cálculo. Este procedimiento se realizó nuevamente transcurridas cuatro semanas de la primera valoración.

División de las Subregiones

Basándonos en la tripartición de la articulación patelo-femoral (APF) y ambos cóndilos y la ausencia de extensión completa dividimos la rodilla de la oveja en doce subregiones articulares para la valoración del cartílago articular y las anomalías en la médula ósea. Estas regiones fueron determinadas independiente por cada observador mediante el uso de referencias anatómicas comunes.

La APF se dividió en ocho subregiones articulares, rótula medial-lateral (RM y RL) y tróclea medial-lateral (TM y TL) en los cortes axiales. La división de la patela y la

tróclea se realizó dibujando una línea tangencial dejando el ápex de la rótula en la región medial.

El hueso subcondral de cada región de la rótula se determinó como la extensión del ancho total de la rótula hasta la cortical opuesta. En los cortes sagitales valoramos la presencia de osteofitos en la rótula superior-inferior (RS y RI) y tróclea superior-inferior (TS y TI). Tras estas divisiones la articulación patelo-femoral quedó compuesta por las regiones: RM, RL, TM, TL, RS, RI, TS y TI.

Las articulaciones fémoro-tibial medial y lateral (AFTM y AFTL) fueron divididas independientemente en ocho subregiones articulares en los cortes sagitales: fémur anterior medial (FAM), fémur posterior medial (FPM), tibia anterior medial (TAM), tibia posterior medial (TPM), fémur anterior lateral (FAL), fémur posterior lateral (FPL), tibia anterior lateral (TAL) y tibia posterior lateral (TPL). La división de ambas regiones anterior y posterior se realizó trazando una línea equidistante entre ambos márgenes articulares tibiales siguiendo el eje de la misma desde la unión osteocondral antero-superior hasta la unión osteocondral pósterio-superior.

El hueso subcondral de cada región estaba delimitado por la unión entre la perpendicular a la superficie articular y una línea imaginaria que uniendo las porciones osteocondrales anterior y posterior. Basándonos en estas subdivisiones la AFTM queda formada por las subregiones FAM, FPM, TAM y TPM y la AFTL por FAL, FPL, TAL y TPL.

Valoración de las Característica Articulares

La valoración de las diferentes estructuras articulares se realizó según las descripciones originales de la escala semi-cuantitativa MOAKS. Este sistema evalúa las lesiones en función del tamaño considerando que si una lesión afecta a más de una región está ha de ser valorada en ambas zonas.

Cartílago Articular

El cartílago articular de cada una de las 12 regiones articulares fue evaluado en imágenes con secuencias de supresión grasa potenciadas en T2 TSE y se hizo en función del tamaño de cualquiera de las lesiones, como el porcentaje de afectación en relación a la superficie de la región (0: sin lesión, 1: <10% del área de la superficie

condral de la región (SCR), 2: 10-75% de la SCR, 3: >75% de la SCR) y el porcentaje de la región con una lesión de espesor completo (0: ninguno, 1: <10% de la SCR, 2: 10-75% de la SCR, 3: >75% de la SCR). Los valores máximos de afectación del cartílago articular para las articulaciones APF, AFTM, AFTL y para toda la rodilla fueron de: 24, 24, 24 y 72 respectivamente.

Lesión de la Médula Ósea y Quistes Subcondrales

La lesiones de la médula ósea se definieron como zonas mal definidas de aumento de la intensidad de señal en la médula ósea grasa epifisaria en secuencias de supresión grasa potenciadas en T2 TSE. Estas fueron caracterizadas en función del volumen de ocupación en cada una de las subregiones articulares (0: sin lesión, 1: <33% del volumen de la subregión, 2: 33-66% del volumen de la subregión, 3: > 66% del volumen de la subregión), el número de lesiones en una subregión (0: ninguna, 1: una lesión de la medula ósea, 2: 2 lesiones de la médula ósea).

Los quistes articulares fueron definidos como focos de aumento de la intensidad de señal con bordes bien definidos y márgenes redondeados en secuencias de supresión grasa potenciadas en T2 FSE. Estos fueron graduados en función del porcentaje de quiste que correspondía una lesión de la médula ósea (0: sin lesión, 1: <33%, 2: 33-66%, 3: > 66%). Los valores máximos de afectación de la medula ósea y de los quistes en las articulaciones APF, AFTM y AFTL y para toda la rodilla fueron de: 36, 36, 36 y 108 respectivamente.

Osteofitos

Los osteofitos fueron evaluados en 16 zonas de la rodilla: margen anterior y posterior de ambos cóndilos femorales y platillos tibiales, faceta rotuliana y tróclea medial y lateral, y faceta rotuliana y tróclea superior e inferior. Estos fueron graduados en función de su tamaño (0: sin osteofito, 1: pequeño, 2: mediano, 3: grande) en secuencia espín eco potenciada en T1. Los valores máximos de valoración de osteofitos para la articulaciones APF, AFTM, AFTL y para toda la rodilla fueron de: 12, 12, 24 y 48 respectivamente.

Sinovitis en el paquete adiposo de Hoffa y Derrame Articular

La sinovitis en el paquete adiposo de Hoffa se definió como la presencia de imágenes difusas hiperintensas en cortes sagitales dentro de la almohadilla grasa y el derrame articular como una señal equivalente a fluido dentro de la cavidad articular en imágenes axiales. Ambos fueron valorados en secuencias de supresión grasa T2/PD/IW en función de su tamaño (0: normal, 1: medio, 2: moderado, 3: grave).

Las puntuaciones finales de SMOAKS fueron clasificadas y cuantificadas basándonos en un sistema similar al descrito por Peterfy para la cuantificación del grado de afectación articular en la escala WOMBS (valores independientes de cada característica articular en cada uno de los tres compartimentos, valores acumulados de cada característica en cada compartimento, valores acumulados de cada característica en toda la rodilla y un valor total combinado para toda la rodilla).

Histología

Tras el sacrificio del animal se extrajo completamente la rodilla, se desarticuló y se obtuvo la extremidad distal del fémur que se cortó con la sierra. Después se hizo otro corte, dejando el cóndilo externo que se volvió a cortar, coronalmente, por delante a ras de la lesión y también por su borde posterior. Finalmente, se efectuó un corte transversal para dejar la lesión con un grosor máximo de un centímetro y facilitar la decalcificación y posterior corte.

Se realizó una valoración con las escalas de valoración del OARSI y MANKIN por un experto en histología de cartílago. Se obtuvieron dos campos de cada preparación teñidos con tricrómico de Masson y Safranina-O, que fueron evaluados de manera ciega.

Estadística

Se realizó un estudio estadístico a partir de los datos obtenidos de la RM por el autor de este trabajo y por dos especialistas en análisis de imagen (RM) del sistema músculo – esquelético. A partir de los datos obtenidos se estudiaron las diferencias inter e intraobservador en cada una de las mediciones realizadas. La valoración media, para cada grupo, con las escalas utilizadas para la valoración de la RM. La valoración media, para cada grupo, con las escalas para la valoración microscópica y la correlación entre las escalas microscópicas y las escalas de RM.

Todos los datos fueron transferidos a una base de datos tipo Excel donde fueron analizados y exportados al programa SPSS para Windows versión 12.0 (SPSS, Chicago, Ill) para aplicar los test estadísticos. Los datos fueron tratados como medias con sus correspondientes desviaciones estándar. La concordancia inter-observador se determinó según la frecuencia exacta de cada valoración tratando los datos como variables continuas. Los resultados presentados representan el grado de fiabilidad intra e interobservador (calculados aplicando un kappa ponderado con intervalos de confianza al 95%), el porcentaje de acuerdo del ejercicio y valor total de cada grupo. Se aplicó un Kappa ponderado cuando el grado de desacuerdo se tenía en cuenta y un Kappa normal cuando no era tenido en cuenta. Si los resultados se diferenciaban en un grado, se ponderaba 0,66; dos grados, 0,33 y tres grados 0,00. Las diferencias entre grupos (tanto en RM como en histología) se determinaron mediante un ANOVA de una vía estableciendo el grado de significación estadística como $p < 0,05$. Para establecer la correlación entre la valoración por RM e histología por grupos se utilizó el test de correlación de Spearman.

RESULTADOS

Fiabilidad de la Escala sMOAKS

Los resultados presentados se corresponden con coeficientes de correlación intra e interobservador, calculados con el coeficiente kappa, con intervalos de confianza al 95%, y porcentaje de acuerdo entre ambos observadores en cada ejercicio. Igualmente se realizaron comparaciones entre los diferentes grupos de estudio con el objetivo de determinar el grado de degeneración producido por las diferentes lesiones.

Aunque los valores más bajos de fiabilidad corresponden al tamaño de las lesiones en medula ósea ($\text{kappa}=0.57$) y al porcentaje de quiste ($\text{kappa}=0.58$), lo cierto es que la prevalencia de este parámetro fue extremadamente baja, especialmente en la AFP. En general, los resultados obtenidos muestran que el sistema de valoración propuesto es reproducible.

Resultados de las Valoraciones entre Grupos

La mayoría de estos valores se situaron por debajo del cuartil inferior de su posible rango con la excepción del grupo 1. El grupo 1 (sLCA) presentó el mayor grado de afectación seguido del grupo 2 (lesión meniscal), grupo 3 (sLCA y meniscectomía medial) y grupo 4 (meniscectomía medial) consecutivamente. Las diferencias observadas entre grupos resultaron ser estadísticamente significativas ($p\ 0.038$). Todos los grupos presentaron el mayor grado de afectación en el compartimento medial (AFTM) seguido del compartimento lateral (AFTL) y la AFP ($p<0.045$). Las lesiones de la medula ósea y los quistes subcondrales contribuyeron menos de un 1% y las lesiones condrales mas de un 80%.

Análisis Histológico

Los resultados obtenidos tras la valoración con las escalas de Mankin y OARSI fueron clasificados por grupos, observando que el grupo que menor daño sufrió fueron aquellas rodillas donde se seccionó el LCA, seguido del grupo al que se había efectuado una meniscectomía, siendo muy semejantes los grupos que 3 y 4, es decir aquellas rodillas a las que se había efectuado una lesión longitudinal en el menisco interno y el grupo al que se había resecado el menisco y seccionado, conjuntamente, el LCA. En todos los grupos la lesión de la tibia y del fémur obtuvieron el mismo valor a excepción del grupo 4, donde la lesión en la tibia fue más grave que en el fémur.

Validación Escala sMOAKS

Analizando los resultados de forma global no existe correlación entre la valoración histológica y por resonancia magnética aplicando sMOAKS. Sin embargo, desglosando las diferentes estructuras evaluadas mediante RM observamos que la evaluación del cartílago articular femorotibial presenta resultados similares a los observados mediante histología con una alta correlación con ambas escalas (MANKIN ($r=0,82$; $p<0,0001$), OARSI ($r=0,85$; $p<0,0003$)). Por tanto, ambas escalas caracterizan de igual manera el cartílago articular femorotibial.

CONCLUSIONES

1. *“La nueva escala desarrollada en este trabajo (sMOAKS) es una escala fiable, con un alto índice de correlación intra e interobservador, para valorar mediante resonancia magnética (RM), la degeneración articular inducida en la rodilla de la oveja”.*
2. *“La valoración por RM, mediante la escala sMOAKS, permite cuantificar y valorar el grado de afectación de diferentes estructuras articulares involucradas en el proceso degenerativo articular, siendo el grupo en el que se seccionó el ligamento cruzado anterior el que presentó mayor grado de afectación a expensas de una mayor presencia de osteofitos”.*
3. *Las escalas histológicas aplicadas en este estudio (MANKIN y OARSI) muestran que el grupo en el que se seccionó el LCA es el que presenta una menor afectación del cartílago articular.*
4. *Cuando analizamos exclusivamente la afectación del cartilago femoral y tibial por RM, con la escala sMOAKS, observamos un alto índice de correlación con las valoraciones histológicas*

SUMMARY

Hypothesis

Injury to the relevant structures in the Ovine Stifle induces degenerative changes over time that allows establishing experimental models for the study of joint degeneration and cartilage repair.

Objectives

- To study the degenerative changes of four surgically induced models of joint degeneration in the ovine stifle (total meniscectomy, anterior cruciate ligament (ACL) transection, meniscal tear and combined ACL transection and total meniscectomy).
- Describe and test the reliability of a specific MRI semi-quantitative scale designed for the evaluation of joint degeneration in the ovine stifle.
- To establish a statistical correlation between the MRI and Histological Assessment of Joint Degeneration.

MATERIAL AND METHODS

Study Design

Twenty, 3 year-old Merino female sheep (mean body weight 40 kg) selected for uniformity of size and conformation were used for surgical induction of osteoarthritis. Sheep were kept in-group in individual cages and they were all feed with a standard diet and water ad libitum. Our institutional animal care and use committee approved all procedures.

All sheep were premedicated, anesthetized, prepared for aseptic surgery and randomly assigned to one of four open procedures on the right stifle joint: ACLt (n=5) (Group 1), mid-body transection of the medial meniscus (n=5) (Group 2), ACLt combined with total medial meniscectomy (n=5) (Group 3) and complete medial meniscectomy (n=5) (Group 4). All procedures were performed through the common surgical approach via medial parapatellar arthrotomy.

Surgery was performed under halothane anesthesia after intramuscular diazepam and ketamine induction with electrocautery used to maintain careful intraoperative hemostasis. After a brief recovery period all sheep were allowed free range of motion for the remainder 8-week trial period.

All sheep were euthanized at 8 weeks post-surgery when the MRIs were performed on a 3T MRI machine (Siemens Trio, Erlangen, Germany). The imaging protocol included sagittal spin-echo proton density and T2-weighted images with a slice thickness of 3 mm and a matrix of 256 x 192 pixels; and coronal and axial spin-echo fat-suppressed proton density and T1-weighted images with the same thickness and matrix. After sacrifice knees were explanted from the animal and kept in formaldehyde solution in order to perform the histological study.

Development of sMOAKS

Within a time period of six weeks, two observers with similar experience in MRI assessment of knee OA made 2-blinded independent observations. A minimum interval of 4 weeks was kept between observations. Items included in the original MOAKS scale, such as degenerative meniscal lesions, ligaments and tendons injuries had to be excluded. Also the subregional division was modified and the scale was called sheep-MOAKS (sMOAKS). Images were scored with respect to 5 independent articular features (articular cartilage, bone marrow lesions/cyst, osteophytes, Hoffa's synovitis) in 12 articular sub-regions.

Subregional Division

Based on the tripartition of the patella-femoral joint and both condyles and the absence of full extension in the ovine stifle we divided the knee into 12 articular sub-regions for scoring articular cartilage and BMLs. These regions were further subdivided by anatomical landmarks, which were determined independently by each reader.

The patella-femoral joint (PFJ) was divided into eight sub-regions medial and lateral patella (MP and LP) and medial and lateral trochlea (MTr and LTr) on the axial view. On the sagittal view the superior and inferior patella (SP and IP) and the superior and inferior trochlea (STr and ITr). Based on these subdivisions the PFJ comprised regions MP, LP, MTr, LTr, SP, IP, STr and ITr. The femoral-tibial articular surface was divided into medial and lateral side (FTMJ and FTLJ). These regions were further sub-

divided into four subregions (on the sagittal view), the anterior-medial and posterior-medial femur (AMF and PMF), the anterior-medial and posterior-medial tibia (AMT and PMT), the anterior-lateral and posterior-lateral femur (ALF and PLF) and the anterior-lateral and posterior-lateral tibia (ALT and PLT). Based on these subdivisions the FTMJ comprised regions AMF, PMF, AMT and PMT and the FTLJ comprised the ALF, PLF, ALT and PLT.

Scoring Individual Features

The scoring of the five individual features was based on the descriptions of MOAKS semi-quantitative scale. As the MOAKS system is modified into a volume oriented approach if a lesion spans more than one subregion, the lesion needs to be scored in all subregions.

Articular Cartilage (AC) was scored in each of the 12 articular surface regions using the *fat-suppressed T2-weighted FSE images*. Articular cartilage was graded for size of any cartilage loss as a percentage of surface area as related to the size of each individual region surface (0: none, 1: <10% of region of cartilage surface area (CSA), 2: 10-75% of region of CSA, 3: >75% of CSA) and percentage of loss in this subregion that is full-thickness loss (0: none, 1: <10% of region of CSA, 2: 10-75% of region of CSA, 3: >75% of region of CSA). The maximum cartilage scores for FTMJ, FTLJ, PFJ and the entire knee were: 24, 24, 24, and 72 respectively.

Bone Marrow Lesions (BMLs) and Cysts were defined as poorly marginated areas of increased signal intensity in the normally fatty epiphyseal marrow on *fat-suppressed T2-weighted FSE images*. BMLs were graded by size in regard to the total volume of the subregion occupied by BMLs in each of the 12 articular surface regions (0: none, 1: <33% of subregional volume, 2: 33-66% of subregional volume, 3: >66% of subregional volume) and in number in regard to the amount of BMLs of the subregion (0: none, 1: one BMLs, 2: two BMLs). Subarticular cysts were identified as foci of markedly increased signal in the subarticular bone with sharply defined rounded margins on the *fat-suppressed T2-weighted FSE images*. Cysts were graded as the percentage of the cyst that was BML (0: none, 1: <33%, 2: 33-66%, 3: >66%). The maximum BMLs and Cysts scores for FTMJ, FTLJ, PFJ and the entire knee were: 36, 36, 36, and 108 respectively.

Osteophytes along 16 different margins of the knee were graded according to size (0: none, 1: small, 2: medium, 3: large) on the sequence. The maximum scores for the FTMJ, FTLJ, PFJ and the entire knee were: 12, 12, 24, and 48 respectively.

Hoffa's synovitis – effusion was described as diffuse hyperintense signal on the sagittal image within the fat pad and effusion was described as fluid equivalent signal within the joint cavity on the axial view both on T2/PD/IW-w fat suppressed sequences. Scores were based on size (0: normal, 1: mild, 2: moderate, 3: severe).

The final sMOAKS scores were classified and quantified for classification. Independent values for each feature in each of the three compartments, cumulative surface feature scores for each compartment, cumulative scores for each feature all along the knee and a total combined score for the whole knee. We had to exclude from the evaluation 3 sheep as they presented with a subluxation of the patella-femoral joint in the MRI (one from group 1, and the others from group 2 and 3 subsequently).

After the sacrifice of the animal the knee was completely extracted and prepared in order to obtain the surfaces of the femur and tibia for the histological evaluation. A blinded expert in the evaluation of articular cartilage performed the histological assessment applying the OARSI and MANKIN scales. Samples were stained with Masson Trichrome and Safranin-O.

Statistics

In each study two blinded readers read the same slide in order to ensure a more reader-friendly measurement tool. Readers used all images to evaluate each feature. Results were treated as means and standard deviations (SD); inter-rater agreement was based on the exact rating of each feature by treating the data as continuous variables. The results presented are for intra and inter-rater reliability (calculated using the weighted kappa (95% confidence interval (CI)), the percentage agreement of the exercise and total scores of the different groups. Kappa (k) statistics were used to assess inter- and intra-observer agreement in grading cartilage, bone marrow lesions and cyst, osteophytes, effusion and synovitis. A weighted kappa was used when the degree of disagreement was taken into account, as opposed to kappa when disagreements were treated equally. If the grade scores differed by one grade, the weighted was 0.66; if they differed by two, the weighted was 0.33; if they differed by three, the weighting was 0.00. A one-way ANOVA was performed to determine differ-

ences among groups with respect to sMOAKS, MANKIN and OARSI scores. Significance was set as $p < 0.05$. Correlation among groups (sMOAKS, MANKIN and OARSI) was performed with the Spearman Correlation Test. SPSS (SPSS, Chicago, Ill) for Windows 12.0 was used for statistics.

RESULTS

sMOAKS Scale Reliability

Presented results are for intra and inter-rater reliability (calculated using the weighted kappa (95% confidence interval (CI)), the percentage agreement of the exercise and total scores of the different groups. Kappa (k) statistics were used to assess inter- and intra-observer agreement in grading cartilage, bone marrow lesions and cyst, osteophytes, effusion and synovitis. A one-way ANOVA was performed to determine differences among groups with respect to sMOAKS scores in order to evaluate the degree of joint degeneration.

Table 8 presents the reliability of the different joint features evaluated. The poorest reliability was for intra-rater BML size (Kappa= 0.57) and percentage of Cyst (Kappa= 0.58) but the prevalence of this feature was extremely low particularly in the patellofemoral joint. Overall, these preliminary results demonstrate that the proposed scoring system is reproducible.

Differences between Groups in sMOAKS

As indicated, most of these scores were in the lower quarter of their possible range with the exception of Group 1 (Table 9). Group 1 (ACL transection) was the most affected followed by group 2 (mid-body transection of the medial meniscus), group 3 (ACLt combined with total medial meniscectomy) and group 4 (medial meniscectomy) subsequently. Differences between groups were statistically significant ($p = 0.038$). All groups presented the highest degree of OA in the medial compartment followed by the lateral compartment and the patellofemoral compartment ($p = 0.045$) (Table 3). Table 10 represents the contribution of the different features evaluated to the overall score for all groups expressed as percentages. Bone marrow lesions and cyst contributed less than 1% to the overall score and cartilage lesions more than 80%.

Histological Studies

Results of the Mankin and OARSI scales are presented in Table 11 (Figures 11-21). The group in which ACL was transected presented the lesser grade of cartilage injury followed by the meniscal tear group observing similar results for groups 3 and 4 (medial meniscectomy and ACL transection plus meniscectomy). All groups showed similar values in the evaluation of femoral and tibial cartilage except for group 4 in which the tibial cartilage was more affected than the femoral side. Independent results per animal are showed in Annex 1.

sMOAKS and Histological Correlation

The evaluation of articular cartilage according to MANKIN (Figure 23) and OARSI scales (Figure 24) presented a similar behavior in all groups being also similar to the results obtained with the sMOAKS scale (Figure 25). The trending lines of the three graphs are alike.

MRI assessment of articular cartilage presented a significant correlation with the Histological analysis: MANKIN Scale ($r=0,82$; $p<0,0001$), OARSI ($r=0,85$; $p<0,0003$). Although most of the differences were statistically significant some of them are not clinically significant.

Global results don't show correlation between the sMOAKS and Histological scales. However, when we only evaluate the articular cartilage of the femorotibial joint we observed similar results with sMOAKS and MANKIN-OARSI scales, so both scales characterize articular cartilage alike.

CONCLUSIONS

1. *"The new scale developed in this study has shown to be a Reliable Scale, with a high intra and interobserver Correlation Index, in order to semi-quantitatively evaluate the effect of the different osteoarthritic induction lesions in the ovine stifle through MRI".*

2. *"MRI assessment, through sMOAKS scale, allows to evaluate and quantify the involvement of different structures implicated in the degenerative process, showing that the anterior cruciate ligament transection group induced the highest degree of degeneration at the expense of an increased presence of Osteophytes".*
3. *"The Histological Scales applied in this study (MANKIN and OARSI) show that the Articular Cartilage of the ACL transection Group was the less affected".*
4. *"The exclusive evaluation of the Femoro-Tibial Articular Cartilage with MRI-sMOAKS Scale shows a High Index of Correlation with the Histological Assessment (MANKIN and OARSI Scales)".*

INDICE

INTRODUCCIÓN	39
Anatomía de la Rodilla de la Oveja y la Cabra	46
Modelos Animales para el Estudio del Cartílago y su Degeneración	49
El proceso de degeneración del cartílago articular	52
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	59
MATERIAL Y MÉTODOS	63
Diseño del Proyecto	65
Desarrollo de la Escala de Valoración sMOAKS	69
Histología	78
Estadística	78
RESULTADOS	83
DISCUSIÓN	101
Valoración Objetiva de la Artrosis en Clínica	105
Valoración de los Estudios por la Imagen	106
Efecto de la lesión del LCA en Modelos Experimentales	120
Efecto de la Meniscectomía en Modelos Experimentales	121
Valoración de las Lesiones del Cartílago en Modelos Experimentales	123
CONCLUSIONES	147
BIBLIOGRAFÍA	151
ANEXO I. Resultados histológicos	185
ANEXO II. Escalas de valoración para el cartílago	227

INTRODUCCIÓN

La cirugía experimental pretende desarrollar modelos similares a los que se presentan en la clínica, sin embargo, esto no siempre es posible pues, como ocurre con el cartílago articular, el tamaño de la lesión, la localización y profundidad, la edad, las enfermedades concomitantes, el nivel de actividad física, los tratamientos previos, el apoyo y otros factores afectan los resultados.

Aunque se han descrito diferentes modelos experimentales de degeneración articular inducido por cirugía, no existen estudios comparativos que valoren la degeneración que conllevan las diferentes lesiones articulares.

La resonancia magnética (RM) es cada vez más utilizada pues permite visualizar todas las estructuras potencialmente relevantes de la articulación y ha mejorado nuestro conocimiento sobre la degeneración del cartílago, clasificando los diferentes estados del cartílago y los factores de riesgo y su evolución. En estos momentos las escalas más utilizadas para el estudio de la artrosis de rodilla por RM son las escalas WORMS [355], BLOKS [199] y MRI artrosis Knee Score (MOAKS) [198]. En el análisis de la escala WORMS [355] destacan parámetros que aceptan más de una opción, como por ejemplo, la medición de la “sinoviosis”, efusión y sinovitis combinadas, la morfología del grosor del cartílago, la profundidad y la intensidad de señal como un único resultado. Otros parámetros resultan difíciles de medir, especialmente en pacientes con artrosis precoz donde solo se pueden utilizar los extremos de las escalas [95][197]. Esto hizo que se desarrollase la escala BLOKS [199]. Ambas escalas han sido muy utilizadas, aunque el número de comparaciones realizadas entre ellas es limitado [198]. Se han comparado utilizando datos de la Osteoarthritis Initiative (OAI) [435] que han resultado ser de gran interés para identificar los puntos débiles de las dos escalas en relación a las estructuras asumidas como relevantes en el curso natural de la enfermedad, el cartílago, los meniscos y las lesiones de la médula ósea. Ambas escalas tienen sus limitaciones, el método de evaluación del menisco en la escala WORMS [355] mezcla muchos conceptos y, por su parte, el método BLOKS [128][199][273] resulta incómodo y complejo para valorar las lesiones de la médula ósea y, en ocasiones, redundante. Ambas valoraciones se han empleado en estudios sin llegar a publicar su descripción, por lo que ha hecho difícil generar comparaciones de las descripciones originales con otros estudios.

En un intento de evolucionar estas escalas semicuantitativas, debido a sus limitaciones, integrando la opinión de expertos y teniendo en cuenta todos los instrumen-

tos de medición y los resultados publicados se desarrolló la escala MOAKS [198] aunque esta no se ha aplicado al estudio de la degeneración del cartílago por RM en animales. Las peculiaridades anatómicas de la rodilla de la oveja y el hecho de que esta degeneración se produce de forma agresiva mediante la lesión de estructuras intraarticulares hace que la aplicación de estas escalas sea controvertida. Por ello, decidimos aplicar una modificación de la escala MOAKS [128][199][273] para valorar los cambios que tenían lugar en la articulación tras una intervención quirúrgica. Entre los motivos para utilizar esta escala se incluye el hecho de que permite obtener una puntuación global representativa del grado de degeneración articular de la rodilla útil para comparar entre los diferentes grupos de ovejas. Excluimos de la valoración las lesiones de meniscos y ligamentos ya que estas fueron provocadas y el análisis de la articulación fémoro-patelar se realizó de forma independiente dadas las particularidades anatómicas de la rodilla de este animal. La fiabilidad de la mayor parte de las características evaluadas en la escala sMOAKS presentaron un grado de concordancia sustancial o casi perfecto de acuerdo a los criterios de Landis y Koch [252]. Sin embargo, algunas de estas características presentaron una concordancia moderada en el estadístico Kappa, incluyendo la fiabilidad intraobservador, en la valoración de las lesiones en la médula ósea y el porcentaje de quiste subcondral, atribuible a la baja frecuencia de presentación de las mismas en los animales. La concordancia ha sido buena entre ambas valoraciones y entre observadores. Estos resultados son muy similares a los obtenidos por Hunter et al. [199] en el trabajo donde describen la escala MOAKS.

La traslación de nuevos medicamentos desde su descubrimiento hasta la práctica clínica es tarea difícil y solo algunos de estos productos logran su aprobación para el uso clínico. En 2007, la Administración para Medicamentos y Comidas (Food and Drug Administration (FDA)) estableció una guía borrador para la industria regulando los pasos necesarios para la obtención de la solicitud del dispositivo de exención experimental (Investigational Device Exemption (IDE)) o la investigación de nuevos medicamentos (Investigational New Drug (IND)) cuya intención fuera reparar o restituir las lesiones del cartílago articular de la rodilla [263][436]. Las recomendaciones incluían una adecuada descripción del método a utilizar junto con todos sus componentes, su interacción con otros materiales o instrumentos e información sobre su fabricación y esterilización. También, para evaluar la respuesta biológica al instrumento, su toxicidad, la duración del efecto y la dosis-efecto debían ser utilizados en modelos animales. Sugirieron modelos animales de artrosis para poder controlar el defecto del cartílago, su preparación y localización. El análisis macroscópico, histológico, los ensayos biomecánicos y de biocompatibilidad serían utilizados como criterios de valoración y

prueba de su eficacia y seguridad.

La principal tentativa de la biología experimental supone crear modelos capaces de predecir los resultados en pacientes que a su vez también son variables. Esto es especialmente interesante en el cartílago articular, donde el tamaño de la lesión, su localización y profundidad, la edad, las enfermedades concomitantes, el nivel de actividad física, los tratamientos previos y otros factores afectan los resultados. Por este motivo, el modelo animal requiere asumir algunas presunciones para poder simplificar y reducir la variabilidad inherente al humano. El modelo animal perfecto sería el que desarrollase lesiones condrales espontáneas en el compartimento medial o lateral de la articulación fémoro-tibial, y estas se desarrollasen en unos meses, tiempo en el que podrían ser identificadas por métodos no invasivos de imagen o biomarcadores. Además tendría que tener el tamaño suficiente para poder realizar estudios de marcha, pruebas de manipulación, estudios de imagen de alta resolución cuantitativos e intervenciones artroscópicas sin requerir cuidados especiales o costosos. La valoración del dolor y la cojera serían cuantificables y correspondientes con la gravedad de la lesión. Los regímenes de rehabilitación, incluyendo la disminución del peso, la movilidad pasiva continua y la fisioterapia, serían utilizados y la progresión de la reparación y la curación sería evidente por las técnicas de evaluación.

Los modelos animales de artrosis son útiles para estudiar la evolución de los cambios estructurales en las articulaciones, determinando como diversos factores pueden iniciar o promover estos cambios y permitiendo evaluar el efecto de intervenciones terapéuticas. Debido a la dificultad para la obtención de tejidos articulares de humanos con procesos de artrosis y a la dificultad de obtenerlos secuencialmente, el uso de modelos animales proporciona la única vía práctica de examinar los procesos involucrados en la iniciación de la artrosis. Sin embargo, la artrosis no solo afecta al cartílago articular sino que todas las estructuras de la articulación se ven afectadas, el hueso subcondral, la sinovial, meniscos, ligamentos, músculos periarticulares y los nervios aferentes cuyas terminaciones se sitúan dentro y fuera de la cápsula articular.

Los estudios farmacológicos en modelos animales se han centrado poco en el efecto sobre el cartílago. Además, el hecho de que el dolor articular sea la principal causa de consulta médica en pacientes con artrosis, hace que los efectos que aporte una medicación al dolor articular en humanos no puedan ser adecuadamente estudiados en modelos animales.

Seleccionar el modelo apropiado es esencial en los estudios experimentales. La investigación debe determinar cual es el modelo animal más adecuado y que representa de forma más exacta las condiciones humanas que se están estudiando y como se pueden transpolar los resultados a las situaciones clínicas humanas [201]. En lo relativo al tejido cartilaginoso y a las articulaciones se plantean diferentes cuestiones como cuál es el modelo animal que representa mejor un defecto condral crítico y qué modelo puede ser trasladado a la clínica [304].

Los modelos animales se han utilizado para ver la rotura del cartílago articular a consecuencia de un traumatismo, inestabilidad o por liberación de partículas en la patogénesis de la artrosis [47][48][439].

Los modelos no invasivos por liberación de partículas son los más fisiológicos pero el momento y la localización de la lesión son impredecibles e imprecisos. La inestabilidad y los modelos de defectos condrales, como la sección del ligamento cruzado anterior, desbridamiento y microfractura tienen las mismas complicaciones e introducen factores y fuerzas que no siempre son una réplica fiable de la patogenia de la artrosis [6][240]. El modelo del impacto consigue una agresión mecánica en un momento determinado y en un punto concreto para estudiar el proceso de degeneración articular localizado aunque tampoco reproduce la etiología de la artrosis. Además, es difícil conseguir cambios degenerativos que no siempre aparecen [40-41][181][325][326][367][452]. El mayor reto con este modelo es determinar la magnitud del impacto, la velocidad y el área para caracterizar la patogénesis (Tabla 1).

La oveja y la cabra han sido comúnmente utilizados para el estudio de la artrosis [7][12][13][67][73][74][150][159-161] [258] [266-268][339][346][385][396][412][421]. Sin embargo, el desarrollo de una artrosis espontánea en ovejas y cabras es muy bajo [258]. La oveja resulta un animal ideal para este tipo de estudios [7][16][17][346][421]. La oveja y la cabra, animales de tamaño mediano ofrecen la ventaja de ser más comparables a humanos que especies pequeñas, a pesar de ser cuadrúpedos. Como sucede con otras especies grandes, el tamaño de las articulaciones permite la utilización de muchos sistemas de clasificación de la artrosis, incluyendo artrocentesis y análisis del líquido sinovial, estudios de imagen (radiografía/TC/RM, análisis de la marcha, artroscopia de rodilla, análisis biomecánico del cartílago, evaluación topográfica de muestras histológicas y análisis molecular y bioquímico.

Aunque se han utilizado diferentes razas de ovejas y cabras, el prolongado tiempo de crianza y la utilización de estas especies para la producción de carne, lana o leche hace que la diversidad genética y biológica entre razas sea baja, lo cual resulta ventajoso al disminuir la variabilidad biológica en estudios experimentales. Además, estas especies son generalmente apacibles, resultan de fácil manejo y pueden ser criadas económicamente en granjas o praderas. La desventaja de ambas especies es que son rumiantes, por lo que los tratamientos por vía oral requieren una validación adicional. Tampoco se dispone de la secuencia génica de ambas especies lo cual dificulta el diseño de reactivos de biología molecular.

Tabla 1
Modelos de Impacto Descritos en la Literatura

Autor	Modelo	Método	Carga (MPa)	Tiempo (ms)
Atkinson et al [19]	Perro Patelo-femoral	Torre de Caída No Invasivo	44,6	5,1
Borelli et al [42]	Conejo Cóndilo femoral	Péndulo Invasivo	80,5	21
D'Lima et al [101]	Conejo Patelo-femoral	Torre Caída No Invasivo	14	500
Ewers et al [124]	Conejo Patelo-femoral	Torre Caída No invasivo	615	4,5
Milentijevic et al [310]	Conejo Cóndilo femoral	Impacto Neumático Invasivo	40	420
Rundell et al [389]	Conejo Patelo-femoral	Torre caída No invasivo	676	3,5
Zhang et al [478]	Conejo Cóndilo femoral	Torre Caída No invasivo	51,8	-
Alexander et al [6]	Conejo Cóndilo femoral	Impacto Muelle Invasivo	394	1,5

El desarrollo de artrosis espontánea en ovejas y cabras se ha descrito como un modelo no viable por su baja prevalencia [258]. El resto de modelos de artrosis en estos animales ha sido inducido mediante cirugía realizándose en la mayoría de ellos menisectomía total o parcial (uni- o bilateral, medial o lateral, con y sin lesión ligamentosa asociada). A diferencia de otras especies animales, como el perro o el conejo, la sección del ligamento cruzado anterior para provocar una artrosis, en ovejas y cabras, está poco descrita. La sección aislada del LCA parece inducir lesiones leves en el cartílago articular de la rodilla de la oveja [109][133][189][202]

[237][385][396][451]. Se han descrito complicaciones tras la rotura del LCA, como es la rotura menisco, daño condral y lesión del ligamento colateral interno (LLI) [72][320][332].

Atarod et al. [16], han demostrado que la sección del LCA produce cambios evidentes en la articulación de la rodilla, disminuyendo las tensiones sobre el ligamento cruzado posterior (LCP) y ligamento lateral externo (LLE) durante la marcha, mientras que el LLI sufre un aumento de sollicitaciones.

En cadáveres humanos se ha visto que al seccionar el LCA aumentan las sollicitaciones sobre el LLI y el LLE [186][264][275][392][405] y se ha visto, en RM, que tras la lesión del LCA hay un aumento de la longitud del LLI y disminución del LLE [438], lo cual puede estar relacionado con un cambio en la rotación y desalineación de la rodilla. De hecho, Atarod et al. [16], encontraron que tras la resección del LCA en ovejas se producen los mismos cambios vistos en la clínica: aumento de la rotación en valgo y aumentos tanto de la traslación anterior de la rodilla como de la traslación interna [110][132]. Los modelos de artrosis predominantes en la literatura en la oveja y en la cabra han sido inducidos quirúrgicamente en la rodilla de los mismos.

Anatomía de la Rodilla de la Oveja y la Cabra

La anatomía de la rodilla de la oveja y la cabra es muy similar a la humana [17]. El cartílago articular de la cabra generalmente tiene más grosor que el de la oveja y, por lo tanto, más parecido al cartílago articular humano siendo útil para los estudios de reparación del cartílago articular [147][148]. Tanto la oveja como la cabra tienen el tendón intraarticular del musculo extensor digital largo (EDL) que cruza la articulación, por delante y por fuera de la extremidad distal del fémur, donde se origina, pasando por un túnel en la extremidad proximal de la tibia. El surco trolear en el fémur distal de la oveja y de la cabra es mucho más ancho y esta mejor definido que en el hombre. El platillo tibial medial es más pequeño que el lateral y el menisco medial también es más pequeño y más circunferencial que el menisco lateral que además de más grande es ovoideo. El tendón del m. poplíteo cruza la articulación en diagonal desde su origen, en la región media de la cara externa del cóndilo lateral del fémur por debajo del ligamento colateral lateral (LCL).

En los trabajos experimentales sobre el cartílago un principio fundamental es trabajar sobre cartílago maduro que no se repare espontáneamente, como ocurre con el cartílago juvenil o del recién nacido. A pesar de que se ha estudiado ovejas y cabras de diferentes edades en el momento de la cirugía, se recomienda la utilización de animales “esqueléticamente maduros” que se alcanza alrededor de los dos años de edad, cuando termina el crecimiento longitudinal del hueso aunque no se vea el cierre fisario en la imagen radiográfica. Sin embargo, esto no es suficiente para predecir la respuesta biológica del cartílago ya que cada fisis cierra a una edad determinada y pueden quedar núcleos de osificación hasta los cuatro años. La apófisis de la tuberosidad anterior de la tibia puede estar abierta hasta los cuatro años de edad en los caballos y gatos [146] y, sin embargo, tiene muy poco impacto sobre la madurez del cartílago. A los dos años, los cartílagos de crecimiento de la rodilla están cerrados y el cartílago articular se puede considerar en condiciones para realizar trabajos experimentales.

La madurez del cartílago articular se comprueba cuando los condrocitos crecen y proliferan aunque el cartílago de crecimiento este completamente cerrado, existiendo una capa continua de cartílago calcificado que separa el cartílago hialino del hueso subcondral y que, a su vez, está muy poco vascularizado [276][317]. El cartílago articular maduro demuestra características bioquímicas y biomecánicas asociadas con una historia de demandas funcionales que no aparecen en el tejido juvenil [53][163]. Es frecuente la utilización para trabajos experimentales de conejos inmaduros con una fuerte respuesta de reparación intrínseca que no es representativa del cartílago humano adulto. La madurez esquelética y del cartílago en el conejo se alcanza a los 7 – 8 meses de edad. Wei y Messner [458] demostraron que el relleno en la reparación del cartílago lesionado, a las 12 semanas de evolución, fue más lenta para alcanzar el mismo nivel de relleno y demostraron una reparación de peor calidad en el conejo adulto (8 meses) que en el conejo adolescente de 5 meses y que el inmaduro de 3 meses.

Las ovejas y las cabras se deben intervenir con edades superiores a 2 años, edad que se considera madura mientras que los cerdos de granja o los minipig tienen un cartílago maduro a los 18 meses de edad aunque la penetración vascular a través del cartílago calcificado se aprecia en muchas ocasiones [37][205][216].

El caballo también se ha utilizado como animal de experimentación en la reparación del cartílago, tanto en la articulación de la rodilla como en la metacarpo-

falángica. El caballo alcanza la madurez a los 18 meses de edad, con un cartílago femoral distal completamente maduro, incluyendo la formación de la “tidemark”, a los 24 meses de edad [139]. Sin embargo, en caballos mayores de dos años deben ser evaluados para descartar patologías como la osteocondritis disecante, quistes óseos subcondrales en las articulaciones fémoro- tibial o fémoro – rotuliana antes de ser admitidos a estudio [204].

Se han publicado numerosos artículos sobre la reparación de las lesiones condrales en el carpo equino. En el caballo, además, constituye una patología clínica que el veterinario debe intentar resolver ya que causa problemas en animales muy costosos y con una gran actividad deportiva [24][172][204][377][437]. Las microfracturas han resuelto un buen número de los problemas en estos animales [193][402]. Los modelos experimentales de reparación se han efectuado en el cóndilo femoral interno y tanto en la cara externa como interna de la tróclea. La articulación tibio-talar se ha empleado para estudios experimentales extrapolables a las lesiones del astrágalo en el hombre.

Las ovejas y las cabras se utilizan frecuentemente en los trabajos de reparación del cartílago por que las rodillas son lo suficientemente grandes para efectuar lesiones de tamaño similar a las observadas en la clínica. Son modelos ideales para injertos osteocondrales [205][253][433] y para la reparación del menisco [84][177][313]. Además, son de un tamaño y características muy similares independiente de la raza. El grosor del cartílago no es grande, aunque en la cabra es ligeramente mayor [147][191][307].

La madurez sexual es otro aspecto relacionado con el cierre fisario en las personas pero también en los animales [201] y, por ello, la artrosis inducida quirúrgicamente también se ha estudiado en ovejas y cabras macho, castrados e intactos, y hembras para ver el efecto de la ooforectomía y los estrógenos en las hembras. Se han descrito cambios en el cartílago articular como resultado de la ooforectomía en ovejas [74][432] y la artrosis evoluciona a medida que se incrementa el tiempo desde la cirugía y con el ejercicio en ovejas menisectomizadas, por ello el sexo y el ejercicio del animal utilizado en estudios de artrosis debe estar estandarizado.

El grosor del cartílago articular es muy variable de una especie a otra, incluso de una articulación a otra en una misma especie. Únicamente el caballo y el cerdo tendrían grosores de cartílago semejantes al hombre (Tabla 2). Comparado con otros

animales el grosor del cartílago equino es el más parecido al grosor del cartílago de la rodilla humana [147][148].

Modelos Animales para el Estudio del Cartílago y su Degeneración

Existe un interés creciente por desarrollar técnicas que protejan y reparen las lesiones del cartílago articular. En los últimos años, se ha producido un cambio de mentalidad, pues antes una lesión del cartílago se dejaba evolucionar hasta el momento de realizar una sustitución articular o también se realizaban gestos mínimos sobre la lesión sin ningún control de los resultados [401]. Anualmente se realizan, en los Estados Unidos [297], unas 500.000 cirugías sobre el cartílago. Los estudios epidemiológicos señalan que, aproximadamente, el 6% de los adultos tienen un foco degenerativo en la rodilla, porcentaje que aumenta al 10% en personas mayores de 65 años [127][130-132]. Es conocido que la rotura del LCA tiene consecuencias biomecánicas en la articulación de la rodilla con cambios degenerativos [10][449]. Shelbourne et al. [404], en 2.270 reconstrucciones del ligamento cruzado anterior (LCA) encontraron 125 lesiones articulares (Outerbridge tipo 3 y 4) con el menisco intacto. También se han encontrado este tipo de lesiones en el 23% de las lesiones agudas del LCA y en el 54% de las lesiones crónicas del LCA, con laxitud o inestabilidad [210][476]. Curl et al. [100], revisaron más de 31.000 artroscopias de rodilla y observaron lesiones condrales en el 63% de los pacientes. Además, en los pacientes menores de 40 años, un 5% tenían un Outerbridge grado IV en el cóndilo femoral interno. Hjelle et al. [188], evaluaron prospectivamente 1.000 artroscopias por lesiones osteocondrales y vieron que el 61% de los casos tenían lesiones del cartílago con una superficie media de 2,1 cm².

Tabla 2
Grosor del Cartílago Articular

Especie	Frisbie et al. [148] Medido en 5 puntos (mm)
Hombre	2,2 – 2,5
Conejo	0,3
Oveja	0,4 – 0,5
Perro	0,6 – 1,3
Cabra	0,7 – 1,5
Caballo	1,5 – 2

Los trabajos de LaPrade et al. [256], en sujetos asintomáticos, demostraron cambios patelo -femorales en el 3,7% de su población. Aroen et al. [14], analizaron las artroscopias realizadas en tres centros hospitalarios durante seis meses, revisando un total de 1.005 rodillas. Las radiografías preoperatorias mostraron un 13% de articulaciones con signos degenerativos y encontraron patología condral, de diversa consideración, en el 66% de los casos y un defecto condral en el 20% de las rodillas. Las lesiones profundas (ICRS grado 3 y 4) estuvieron presentes en el 11% de las artroscopias. Por último, señalaron que en el 6% de las rodillas tenían defectos superiores a 2 cm².

La frecuencia de las lesiones traumáticas del cartílago y lesiones osteocondrales en la población es desconocida pero la artrosis de cadera y de rodilla son más frecuentes en la vejez que cualquier otra enfermedad en los EEUU [49][132][478] y el 6% de los adultos mayores de 30 años con rodillas sintomáticas presentan signos radiográficos de artrosis. Aproximadamente el 12% de todas las artrosis tienen antecedentes traumáticos [55] y se calcula que el riesgo de que un traumatismo articular termine en un proceso degenerativo es de entre un 20% y un 50% [114].

Un impacto agudo sobre el cartílago articular puede producir lesiones que son consecuencia de diferentes fenómenos que provocan una degeneración progresiva que conduce a la artrosis. La incongruencia articular y la inestabilidad, consecuencia de diferentes lesiones, son críticas en el proceso degenerativo. El tiempo necesario para que aparezcan signos artrósicos clínicos es muy variable, entre 2 y 5 años tras algunas fracturas articulares y décadas en el caso de lesiones menos graves [9].

Son interesantes los estudios epidemiológicos efectuados sobre la evolución articular en deportistas de élite y en trabajadores con sobreuso de sus articulaciones. En estos casos hay un aumento de esclerosis asintomática y formación de osteofitos marginales, sin estrechamiento del espacio intraarticular en la rodilla y un aumento de la esclerosis del hueso subcondral y formación de osteofitos en las caderas de antiguos corredores de élite [221][298][397]. Kaplan et al. [227], evaluaron a jugadores de baloncesto asintomáticos y encontraron una incidencia de lesiones de cartílago articular por RM, de un 47,5% mientras que Major y Helms [282], vieron un 41% de lesiones cartilaginosas en jugadores de la liga juvenil y universitaria de baloncesto. Se ha descrito que un 10% de los pacientes que presentan una lesión aguda de rodilla con hemartros después de un traumatismo, presentarán una lesión osteocondral [331].

En 1.321 estudiantes que habían tenido lesiones articulares durante su adolescencia o juventud desarrollaron una artrosis de rodilla el 14% frente al 6% que no habían sufrido este tipo de lesiones [156]. El seguimiento de personas con rotura de ligamentos o menisco demuestra que tienen diez veces más posibilidades de padecer una artrosis [162][384]. Otro estudio demuestra que uno de cada cuatro pacientes tratados de una fractura de acetábulo padece artrosis [250] y que entre el 23% y el 44% de los pacientes desarrollan artrosis tras una fractura articular en la rodilla [459]. Por otro lado, algo menos del 50% de las fracturas articulares distales de la tibia desarrollaron artrosis [113].

Teniendo en cuenta todos estos datos se puede concluir que las lesiones ligamentosas y capsulares articulares incrementan el riesgo de padecer artrosis hasta diez veces y que las fracturas articulares lo aumentan hasta 20 veces [9]. Sin embargo, en otro estudio, Forriol et al. [138], demostraron que solo un 14% de las intervenciones de 600 prótesis primarias de rodilla, realizadas en diferentes centros españoles, tenían antecedentes de lesión menisco o ligamentosa en la rodilla y Brown et al. [55], por su parte, señalaron que los pacientes con artrosis tenían antecedentes traumáticos en el 1,6% las coxartrosis, el 9,8% de las gonartrosis y en el 79,5% de las artrosis de tobillo.

Treppo et al. [430], analizando la articulación del tobillo, en 470 cadáveres de entre 21 y 94 años, observaron que el 62% de los tobillos y el 35% de las rodillas no presentaban señales degenerativas y que los signos artrósicos en la rodilla eran siempre de mayor gravedad que en el tobillo donde además no guardaban relación con la edad. Esto resulta llamativo cuando el cartílago de la articulación del tobillo es más delgado que el de la rodilla [18] y soporta más peso corporal con una superficie menor. Tal vez se explique por ser el tobillo una articulación más estable con una estructura diferente del cartílago. Los condrocitos del astrágalo responden menos que los de la rodilla a los mediadores catabólicos (IL-1 o la fibronectina) y expresan menos genes relacionados con las metaloproteinasas (MMPs) [226]. Además, cuanto más delgado es el cartílago la capa superficial del mismo es relativamente más gruesa y esto produce mayor protección y resistencia al daño siendo su matriz cartilaginosa también más densa, con mayor contenido de glicosaminoglicanos y menor de agua [430]. Por su parte, el hueso subcondral del astrágalo se afecta menos por las cargas que en la rodilla sin aumentar su densidad, como ocurre en la rodilla. Como han descrito Treppo et al. [430], las articulaciones con mayor congruencia muestran un cartílago de menor grosor y menor incidencia de signos degenerativos

El Proceso de Degeneración del Cartílago Articular

La reparación del cartílago articular es un proceso complejo y difícil por la baja densidad celular y la incapacidad de los condrocitos para migrar hacia el defecto, en un tejido comprometido por la falta de riego sanguíneo. La degeneración articular se puede definir como un desequilibrio entre los factores anabólicos y los catabólicos según la actividad de los condrocitos quienes expresan diferentes tipos de citoquinas o proteinasas [155].

Los primeros signos de degeneración son la pérdida de proteoglicanos y el aumento de fluido. Los proteoglicanos son los responsables del comportamiento elástico del cartílago a compresión [316] mientras que las fibras de colágeno se encargan de la resistencia a la compresión y tensión del tejido [249][316] y el líquido intersticial del comportamiento viscoelástico de tensión – relajación del cartílago [316].

El cartílago artrósico sintetiza colágeno tipo I en las fases finales de la degeneración [455] que se identifica con una transformación del cartílago en fibrocartílago. El colágeno tipo VI y XI también aumentan en las fases iniciales [301] mientras que el tipo IX, sólo aumenta si el fibrocartílago está presente. En la artrosis se ha visto un aumento de síntesis de colágeno tipo X en los condrocitos lo que sugiere que su metabolismo está alterado [378][455]. La síntesis de colágeno tipo II se puede detectar por el nivel del propéptido de procolágeno tipo IIC (CPII) circulante en sangre periférica que liberan el dominio globular del pre-propéptido C-terminal [185][406]. La síntesis aumenta en los primeros estadios de la artrosis como parte del proceso reparador [322]. Una vez sintetizado, el colágeno tipo II es degradado por las MMP, produciendo fragmentos con una longitud de tres cuartos y un cuarto. Los fragmentos de longitud de $\frac{3}{4}$ (Col2-3/4 epitopo) se miden como colágeno tipo II escindido (C2C), indicando la rotura del colágeno tipo II [99]; este biomarcador puede ser un indicador temprano de lesión articular [121].

Cuando se aplica un impacto inmediato y fuerte sobre la superficie del cartílago articular se producen cambios que ayudan a comprender el proceso que tiene lugar tras el mismo. Los estudios sobre explantes articulares señalan que los impactos de alta energía causan daños en el cartílago, y que cuanto mayor es el impacto mayor es la lesión, produciéndose una liberación de oxígeno, la muerte de condrocitos y la rotura de la matriz [28][292]. Diferentes niveles de aplicación de energía producen diferen-

tes tipos de lesión cartilaginosa, con diferente respuesta de reparación y diferente potencial de curación: 1. daño celular y matriz, sin cambios estructurales en el cartílago o el hueso; 2. daño celular y matriz acompañados de cambios estructurales con lesión macroscópica del cartílago articular sin fractura desplazada del hueso, y 3. fracturas articulares desplazadas que afectan al cartílago y, en ocasiones, al hueso [60].

Jang et al. [214], encontraron que las lesiones por impacto producen apoptosis de los condrocitos por la vía FAK (Focal Adhesión Kinase) y SFK (Src family kinase) lo cual, implica interacciones con el citoesqueleto de las integrinas como patrón de señales. Una deformación excesiva del tejido que acompaña a una carga por impacto induce la muerte celular actuando sobre los receptores celulares de adhesión.

Los condrocitos mantienen la matriz extracelular produciendo moléculas estructurales incluyendo colágeno y glicoproteínas [62]. Los estímulos mecánicos fisiológicos sobre los condrocitos estimulan la actividad anabólica y se mantiene la integridad de la matriz extracelular (ECM); sin embargo, una carga repetida y excesiva o una agresión mecánica grave altera o produce la muerte celular que contribuyen a la destrucción articular [42][55][60][209][261][330][338]. La agresión mecánica sobre el cartílago articular dispara la liberación de las llamadas “reactive oxygen species” (ROS), que causan la muerte celular. La mortalidad disminuye considerablemente con la supresión de la producción de los ROS con rotenona y el inhibidor del transporte de electrones en cadena (electron transport chain inhibitor) o con N-acetil-cisteína, un oxidante “basure-ro”, sugiriendo que el estrés oxidativo es el responsable de la muerte de los condrocitos pocas horas después de la lesión mecánica [171][294]. Además, la disolución del citoesqueleto con tratamiento con citocalasina-B o nocodazol también disminuye la muerte celular lo cual apunta a que la unión del citoesqueleto y las integrinas de la superficie celular son necesarias para inducir la muerte de los condrocitos [394].

Las lesiones de baja energía, contusiones, luxaciones o subluxaciones y lesiones ligamentosas suelen quedarse en los dos primeros niveles señalados, mientras que las lesiones de alta energía producen fracturas desplazadas intraarticulares [60] [113].

La artrosis es una enfermedad heterogénea que se caracteriza por la insuficiencia del órgano de la articulación sinovial [333]. La enfermedad se produce cuando el equilibrio dinámico entre los fenómenos de degradación y reparación tisular se alte-

ra, a menudo en una situación en la que las cargas mecánicas aplicadas superen el nivel que puede ser tolerado por los tejidos de las articulaciones [125].

La artrosis se caracteriza por la pérdida progresiva de cartílago articular, la remodelación ósea subcondral, la formación de osteofitos y la inflamación sinovial, acompañado de dolor articular y una discapacidad funcional. Sin embargo, mientras que el fracaso progresivo de la articulación puede causar dolor y discapacidad [176], muchas personas con cambios estructurales acordes con fenómenos artrósicos están asintomáticos durante mucho tiempo [179].

La etiología de la artrosis quizá se entienda mejor como el resultado de una tensión mecánica excesiva aplicada en un contexto de susceptibilidad sistémica. La susceptibilidad a padecer artrosis puede estar aumentada en parte por la herencia genética, la edad, la etnia, factores nutricionales y el sexo femenino [126]. En aquellas personas vulnerables al desarrollo de artrosis de rodilla, los factores mecánicos locales, como una congruencia articular anormal, la mala alineación de los ejes articulares, la presencia de debilidad muscular o alteraciones en la integridad estructural del entorno como lesiones meniscales, lesiones de la médula ósea (LMO) o la rotura del ligamento cruzado anterior pueden facilitar la susceptibilidad y la progresión de la artrosis. La carga también se ve afectada por la obesidad y la lesión de diferentes estructuras articulares, ya sea aguda como en una lesión deportiva o después del uso repetido.

Un traumatismo articular agudo provoca un proceso en tres fases, que se superponen una con otra, y que son una respuesta a la lesión durante las dos primeras semanas después del traumatismo. La fase 1, se caracteriza por la muerte celular y la apoptosis e inflamación. En la fase 2 o intermedia, se produce un equilibrio entre la fase anabólica y catabólica y en la fase 3 o tardía, tiene lugar la formación de la matriz con respuesta limitada a la reparación y remodelación [9].

Una fractura articular produce la muerte de los condrocitos [20]; además, en modelos animales, se ha visto que una lesión que desarrolla artrosis produce cambios en el cartílago, hueso, sinovial y otros tejidos [151][341]. Estos cambios se asocian con modificaciones rápidas en el suero y en las concentraciones del líquido sinovial con cambios de marcadores de cartílago y citoquinas pro-inflamatorias [151][341][400][456].

Durante el desarrollo del cartílago, los condrocitos proliferan rápidamente mientras que en el cartílago articular maduro son pocos los condrocitos que presentan actividad mitótica aunque permanecen metabólicamente activos, sintetizando y degradando los productos de la matriz, con una actividad metabólica baja. En el cartílago maduro normal los condrocitos sintetizan macromoléculas que mantienen la matriz y aumentan su tasa de síntesis ante una lesión o frente a cambios degenerativos pero, sin embargo, son incapaces de reparar defectos tisulares importantes. Después de una lesión articular los condrocitos proliferan con una respuesta muy limitada y sin evidencia de que migren a través de la matriz hasta la zona lesionada.

El tamaño de la lesión condral influye directamente en la reparación [308]. Experimentalmente las lesiones menores de 1 mm de diámetro curan con facilidad mientras que las que superan los 3 mm de diámetro nunca lo harán [311]. También los defectos osteocondrales que contactan con el cartílago de la superficie opuesta presentan reparación pobre.

Esto explica la aparición de clones o grupos isogénicos de células cartilaginosas, que parecen tener la función de degradación y fagocitosis, funciones destructivas del cartílago. En los estadios iniciales de una artrosis de cadera, cuando la superficie está más o menos intacta, el proceso patológico estimula la producción tanto de los clones de síntesis y de destrucción que pueden proceder de los primeros. Los destructivos están más cerca de la superficie articular y los de síntesis permanecen en la profundidad del cartílago [311].

Los condrocitos son sensibles a los cambios estructurales de la matriz y a las demandas mecánicas de la superficie articular [64]. La carga y el movimiento articular favorecen el metabolismo del cartílago articular, estimulando la síntesis de las macromoléculas estructurales mientras que la inmovilización articular prolongada o la falta de carga deterioran la superficie articular provocando la pérdida de proteoglicanos. La utilización adecuada de una articulación mantiene el equilibrio óptimo en la estructura, composición y función del cartílago.

Según Buckwalter [60][65] las lesiones agudas que aparecen en el cartílago inmediatamente después de una lesión pueden ser consecuencia de la pérdida de macromoléculas de la matriz sin daño celular o del colágeno. La lesión crónica, por el

contrario, produce una alteración mecánica celular, de la matriz cartilaginosa y en estadios más avanzados también afecta al hueso.

Cada tipo de lesión tiene una respuesta de reparación diferente con un pronóstico distinto. Sin embargo, muchas veces se superponen en una misma articulación, debido al tiempo transcurrido; pues, finalmente, la pérdida progresiva de macromoléculas de la matriz termina afectando a las células y a la red de colágeno, lo que altera la mecánica de la superficie articular.

La inhibición de las caspasas [103] disminuye la apoptosis inducida de los condrocitos, también el surfactante p188 puede limitar la necrosis de los condrocitos que sigue a un impacto articular [389] y los anti-oxidantes, que aplicados pocas horas después de la lesión, previenen el daño celular y la degradación de la matriz [292][293][370]. Además, estudios in vitro han demostrado que al bloquear los efectos del ciclo de la fibronectina activados por el impacto sobre el cartílago también previenen el daño [111]. Por su parte, la OP-1 inhibe la expresión de IL-6 y otras citoquinas [203][351].

Con el avance de la biología molecular se han definido patrones de expresión de proteínas en el líquido sinovial relacionados con la artrosis. Estas proteínas que regulan las interacciones con las células del sistema inmune son las citoquinas. Están implicadas en la inflamación y el daño articular, por ello su concentración en el líquido sinovial varía según el estado de la articulación. Las principales citoquinas intraarticulares incluyen las interleucinas (IL-1, 6 y 8, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), y el factor de granulocitos y macrófagos estimulante de colonias (GM-CSF). Tanto la interleucina IL-1 y el TNF- α tienen una importancia adicional, ya que pueden provocar efectos directos condrolíticos e independientes de sus propiedades antiinflamatorias. Es decir, actúan en la pérdida de cartílago, aumentando la actividad catabólica de los condrocitos e inhibiendo su actividad anabólica [1][123][364]. La medición del balance anabólico - catabólico del líquido sinovial, traducirá el ambiente y el estado de las estructuras con las que se relaciona.

Desconocemos la concentración fisiológica de las citoquinas en el líquido sinovial. En pacientes sin edema y sin artritis reumática se han medido hasta 0,02 ng/ml de IL-1b [224][460]; los rangos suben a 0,115 – 0,130 ng/ml en la artritis reumatoide y entre 0,021 - 0,146 ng/ml en rodillas artrósicas [224][460][192]. En personas con rotu-

ra del LCA las concentraciones de IL-1b están entre 0,011 – 0,025 ng/ml [36]. En un estudio experimental en ratas las concentraciones de IL-1b al provocar una artrosis guardan relación con el grado de degeneración articular [456]. En un estudio experimental en cerdos, McNulty et al. [306], encontraron que la IL-1a en rodillas ligeramente degeneradas fue 0,05 ng/ml y alcanzaba los 0,3 ng/ml en rodillas muy alteradas mientras que la IL-1b era de 0,11-0,12 ng/ml en este mismo tipo de degeneración.

Las citoquinas pro-inflamatorias estimulan la producción de MMP regulando la producción de colagenasas y agreganasa que suprimen la producción, por parte de los condrocitos, de agreganos y colágeno tipo II necesario para mantener y reparar la matriz extracelular [5][168][169][376][447].

Tanto el cartílago normal como en el degradado hay un intercambio de sustancias, fragmentos de moléculas de la matriz extracelular y productos de degradación del metabolismo del cartílago que circulan por el líquido sinovial [269][395][426] y, posteriormente, por la sangre [417][418]. Uno de los productos que más se han estudiado en el proceso de degradación es la proteína oligomérica de la matriz cartilaginosa (COMP) [120]. Verma y Dalal [447] encontraron un aumento en la concentración de COMP en los primeros estadios de artrosis pero sin hallar una correlación entre los niveles de COMP y los hallazgos radiográficos [31].

La matriz extracelular pericelular se encarga de satisfacer las necesidades metabólicas, uniendo la membrana celular a la matriz que la rodea y protege a las células del daño originado por las deformaciones. Por el contrario, la matriz extracelular interterritorial define las propiedades mecánicas del tejido. El área pericelular es rica en proteoglicanos sulfatados y proteínas no colagénicas, hialuronato [363] y colágeno tipo VI [362] pues las fibras de colágeno forman como una cesta alrededor de los condrocitos para protegerlos frente a las cargas y las deformaciones. La unidad formada por el condrocito y la matriz que lo rodea se denomina condrona y constituye la unidad anatómica y mecánica del cartílago.

Los biomarcadores deberían ser un estudio complementario a los estudios de imagen y la artroscopia para determinar el grado de degradación de la matriz cartilaginosa y las diferentes fases de la enfermedad. Los marcadores se han estudiado en suero, orina y en líquido sinovial. Se han encontrado niveles elevados de queratán-sulfato y proteína oligomérica de la matriz cartilaginosa en el suero de pacientes con

cambios degenerativos radiográficos pero también en pacientes con un traumatismo articular, como es la rotura del ligamento cruzado anterior o una meniscectomía parcial [31][366][454]. También se han utilizado los epitopos de colágeno [85][121]. Además, se han detectado cambios en los niveles de citoquinas y metaloproteinasas en función de la patología: menisco, condral o rotura del LCA [295]. De hecho, tras la reparación quirúrgica del LCA se ha demostrado un daño progresivo en el cartílago articular y se ha sugerido que el 62% de los LCA reconstruidos con lesión única del ligamento presentan evidencias de artrosis postraumática a los 10-15 años de la cirugía [340].

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

La lesión de las diferentes estructuras articulares de la rodilla de la oveja producen un mayor o menor grado de degeneración articular en el tiempo permitiendo establecer modelos experimentales adecuados según los proyectos de investigación sobre la degeneración y reparación del cartílago articular a realizar.

Objetivos

- Estudiar las alteraciones articulares que producen diferentes modelos experimentales de degeneración articular en la rodilla (meniscectomía total, lesión del LCA, lesión longitudinal del menisco y meniscectomía con sección del LCA) en la oveja y establecer los diferentes modelos degenerativos mediante el estudio por imagen e histológico de las muestras procesadas.
- Establecer y validar un sistema de valoración por RM de la degeneración articular inducida en la rodilla de la oveja para su estudio no invasivo.
- Establecer una relación entre las lesiones macro y microscópicas con la imagen con RM.

MATERIAL Y METODO

Diseño del Proyecto

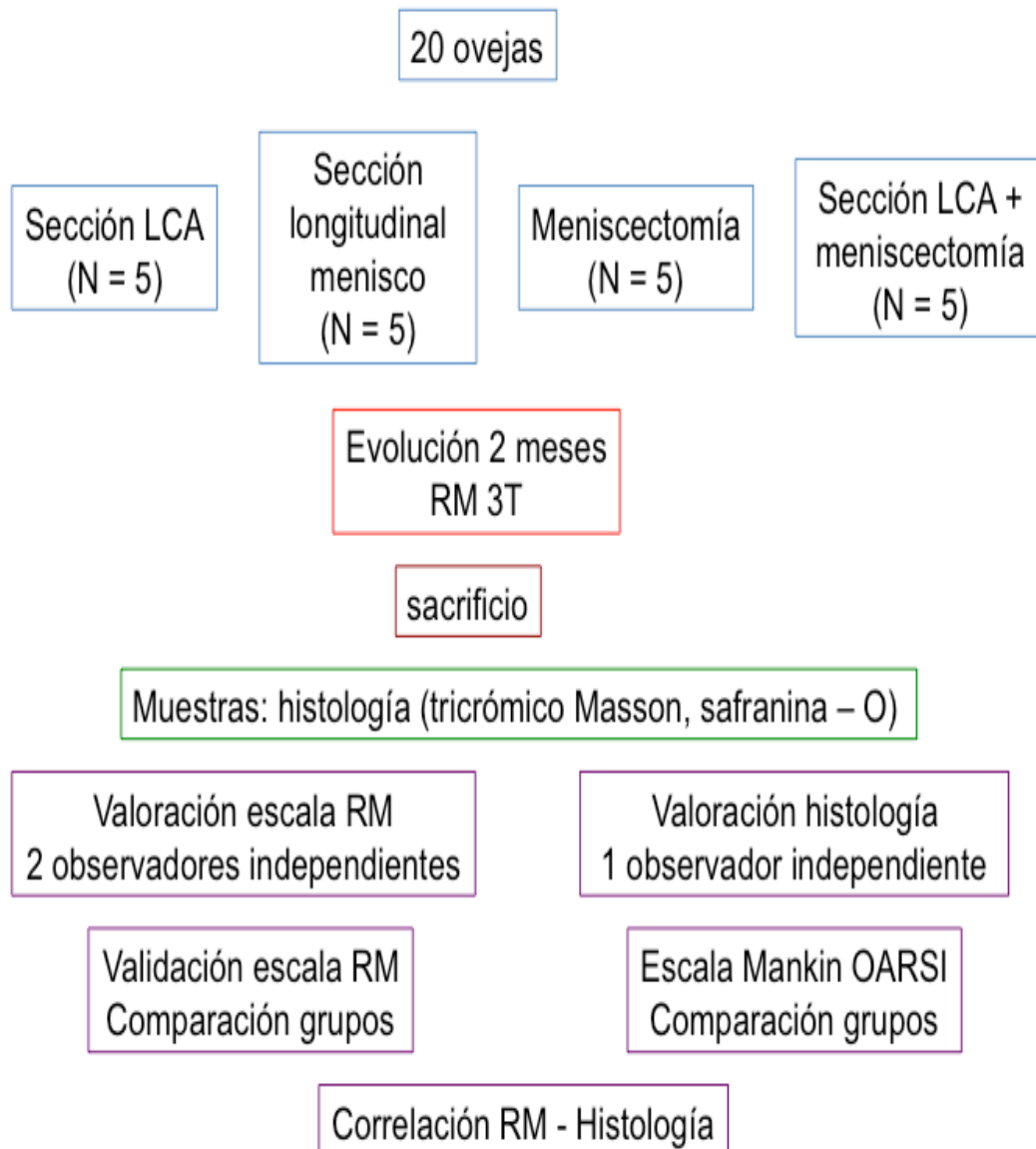


Figura 1. Diseño del Estudio

Modelo Animal

Utilizamos veinte ovejas hembra, de raza merino, de 3 años de edad con un peso entre 35 y 45 kg. No presentaban ninguna enfermedad o lesión que impidiera el desarrollo del estudio. Las ovejas permanecieron alojadas en grupo, alimentadas con una dieta estándar y agua ad libitum. Fueron divididas en cuatro grupos de cinco ovejas cada uno. El estudio fue aprobado por la Comisión de Experimentación Animal de la Facultad de Veterinaria, de la Universidad de León, y se siguieron las recomendaciones de experimentación animal.

Agrupación de los Animales

Todos los animales fueron intervenidos de su rodilla izquierda y según la técnica realizada se agruparon de la siguiente manera:

- **Grupo 1** ($n=5$) seccionamos el ligamento cruzado anterior (LCA) completamente, con un bisturí.
- **Grupo 2** ($n=5$) generamos una lesión en asa de cubo en el menisco interno.
- **Grupo 3** ($n=5$) seccionamos el LCA y resecamos el menisco interno en su totalidad.
- **Grupo 4** ($n=5$) resecamos el menisco interno con cuidado de no lesionar la cápsula articular.

Cuidados Pre-operatorios

Los animales llegaron al animalario de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León una semana antes de su operación para su adaptación a las nuevas condiciones ambientales. A su llegada al recinto, fueron esquilados y desparasitados, y dos días antes de la operación permanecieron en ayuno y con poca agua. El día anterior a la intervención, se lavaron con jabón antiséptico y se procedió a su secado con estufas de aire caliente.

Anestesia del Animal

Se utilizó anestesia general con intubación endotraqueal. Para proceder a la

administración de la medicación anestésica, se canuló la vena cefálica presente en la extremidad anterior derecha. Una vez canulada se conectó a un sistema de gotero a través del cuál se suministró también fluidoterapia de mantenimiento con suero glucosado al 5%. El catéter fue del tipo Abbocath, de calibre 14 ó 18. La inducción anestésica se realizó mediante la administración por vía intravenosa de: tiobarbital®, (Abbot) a una dosis de 12 mg/Kg, atropina®, (B. Braun) 0,5 mg/Kg y fentanil® (Kern), a una dosis de 0,015 mg/Kg. Durante la misma se administró la profilaxis antibiótica. La anestesia se mantuvo posteriormente con los siguientes fármacos: tiobarbital® a una dosis de 10 mg/Kg y fentanil® a una dosis de 0,015 mg/Kg. Con esta medicación se logró una depresión del estado de consciencia del animal junto con un buen efecto analgésico, sin afectar a la actividad respiratoria espontánea, suficiente para poder practicar las operaciones programadas. El despertar del animal se realizó de forma espontánea.

Técnica Quirúrgica según los Grupos

Se colocó al animal en decúbito supino sobre la mesa de operaciones. Se procedió al rasurado cuidadoso de la extremidad sobre la zona a intervenir. Se prosiguió con un lavado minucioso con detergente antiséptico de la extremidad y posterior pincelado de la misma con solución alcohólica de yodo al 0,5%, aislando mediante un vendaje estéril el extremo distal de la extremidad hasta el nivel de la epífisis distal tibial. Seguidamente se preparó el campo quirúrgico estéril.

La técnica quirúrgica fue muy similar en todos los grupos. A través de una incisión pararrotiliana interna, de unos 7-10 cm de longitud, realizamos una artrotomía medial, luxando la rótula hacia afuera para exponer la articulación fémoro-tibial, limpiando el paquete adiposo intraarticular y teniendo especial cuidado de no dañar las partes blandas. Posteriormente, se procedió a lesionar alguna estructura determinada de forma aleatoria, para provocar la degeneración articular según los grupos: en el grupo 1 se seccionó el ligamento cruzado anterior (sLCA) completamente con bisturí, en el grupo 2 se produjo una lesión en asa de cubo en el menisco interno de 1,5 cm de longitud con bisturí y traccionando con un mosquito; en el grupo 3 se seccionó el LCA y, a continuación, se extirpó el menisco interno totalmente y en el último grupo se extirpó únicamente el menisco interno cuidando de no lesionar la cápsula articular ni la superficie cartilaginosa.

Tras la cirugía suturamos por planos con especial cuidado para evitar la luxación de rótula en el postoperatorio. La piel se cerró con grapas y tras la aplicación de un antiséptico cutáneo se hizo un vendaje compresivo. Las ovejas no sufrieron ningún tipo de inmovilización tras la cirugía.

Cuidados Post-operatorios

Hasta que cesaron los efectos de la anestesia los animales permanecieron en una sala anexa al quirófano, retirándose la cánula endovenosa, y desde allí fueron trasladados al animalario donde permanecieron estabulados, hasta la fecha del sacrificio. La pauta analgésica utilizada fue de ketoprofeno 3 mg/Kg, vía intramuscular (IM), cada 24 horas durante los 3 días posteriores a la intervención. Los animales deambularon libremente en su jaula y dispusieron de comida y agua *ad libitum* desde el primer día después de la intervención. Los animales fueron controlados diariamente, para evaluar su deambulación y la evolución de la herida quirúrgica.

Sacrificio de los Animales

Todos los animales se sacrificaron a las 8 semanas de la intervención. No hubo motivos para excluir ninguna oveja del estudio por lo que al finalizar el periodo de seguimiento (2 meses) se sacrificaron todos los animales. Antes del sacrificio, el animal fue sedado mediante la administración de una dosis (IM) de Ketamina (10 mg/Kg) y Xilacina (0,2 mg/Kg). Seguidamente se le administró por vía endovenosa (vena safena) 1 gramo de Tiobarbital® y 20 ml de cloruro potásico (KCl).

Estudios Realizados

Previo al sacrificio con el animal sedado se realizaron radiografías (proyecciones antero - posterior y lateral) y RM de la rodilla afectada (Siemens Trio 3T), en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León. Los protocolos de adquisición de RM siguieron las recomendaciones de las escalas Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) [354] y Boston-Leeds Osteoarthritis Knee Score (BLOCKS) [199]. Tras la muerte del animal extrajimos la rodilla intervenida conservándolas en una solución de formaldehído (HCHO, PM 30,30) al 40%. Transcurridos 7 días se rea-

lizaron fotografías de todas las muestras y posteriormente se cortaron en piezas más pequeñas para comenzar la decalcificación con EDTA.

Desarrollo de la Escala de Valoración sMOAKS

Adaptamos la escala MOAKS a nuestro estudio y a las condiciones de la anatomía de la rodilla de la oveja denominándola sheep-MOAKS (sMOAKS). Excluimos la valoración de la afectación del menisco, ligamentos y tendones ya que estas estructuras fueron lesionadas de forma intencionada para inducir la degeneración de la articulación. La valoración del grado de afectación articular se realizó mediante el estudio de cinco estructuras independientes: cartílago articular, lesión de la médula ósea y quistes, osteofitos y sinovitis en el paquete adiposo de Hoffa, en 12 sub-regiones articulares.

Tras una sesión de formación inicial con una serie de ejercicios de entrenamiento para mejorar el calibrado y asegurar la fiabilidad de las valoraciones de la escala dos observadores desconocedores de los grupos (evaluación ciega) valoraron de forma independiente 17 de las 20 rodillas (las ovejas 1, 9 y 14 fueron excluidas por presentar luxada la AFP en las imágenes de resonancia magnética) (Figura 10). Estos utilizaron todas las imágenes disponibles realizando la valoración definitiva en el mismo corte de RM. Las regiones de estudio en la rodilla fueron determinadas independientemente por cada uno de los lectores. Los resultados de las valoraciones fueron anotados en plantillas y posteriormente pasados a una hoja de cálculo. Este procedimiento se realizó nuevamente transcurridas cuatro semanas de la primera valoración.

División de las Subregiones

Basándonos en la tripartición de la articulación patelo-femoral (APF) y ambos cóndilos y la ausencia de extensión completa dividimos la rodilla de la oveja en doce subregiones articulares para la valoración del cartílago articular y las lesiones en la médula ósea (Figura 2). Estas regiones fueron determinadas independiente por cada observador mediante el uso de referencias anatómicas comunes.

La APF se dividió en ocho subregiones articulares, rótula medial-lateral (RM y RL) y tróclea medial-lateral (TM y TL) en los cortes axiales. La división de la patela y la tróclea se realizó dibujando una línea tangencial dejando el ápex de la rotula en la región medial.

El hueso subcondral de cada región de la rótula se determinó como la extensión del ancho total de la rótula hasta la cortical opuesta. En los cortes sagitales valoramos la presencia de osteofitos en la rótula superior-inferior (RS y RI) y tróclea superior-inferior (TS y TI). Tras estas divisiones la articulación patelo-femoral quedó compuesta por las regiones: RM, RL, TM, TL, RS, RI, TS y TI.

Las articulaciones fémoro-tibial medial y lateral (AFTM y AFTL) fueron divididas independientemente en ocho subregiones articulares en los cortes sagitales: fémur anterior medial (FAM), fémur posterior medial (FPM), tibia anterior medial (TAM), tibia posterior medial (TPM), fémur anterior lateral (FAL), fémur posterior lateral (FPL), tibia anterior lateral (TAL) y tibia posterior lateral (TPL). La división de ambas regiones anterior y posterior se realizó trazando una línea equidistante entre ambos márgenes articulares tibiales siguiendo el eje de la misma desde la unión osteocondral antero-superior hasta la unión osteocondral postero-superior.

El hueso subcondral de cada región estaba delimitado por la unión entre la perpendicular a la superficie articular y una línea imaginaria que une las porciones osteocondrales anterior y posterior (Figura 3). Basándonos en estas subdivisiones la AFTM queda formada por las subregiones FAM, FPM, TAM y TPM y la AFTL por FAL, FPL, TAL y TPL.

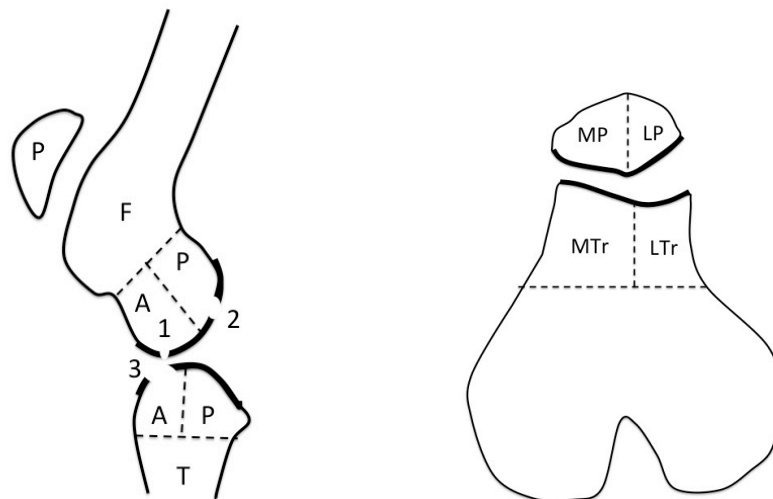




Figura 2. Delimitación regional en imagen axial de la articulación patelo-femoral lateral con secuencia en T2 (imagen superior derecha e inferior). Representación esquemática de la graduación de la afectación del cartílago articular (imagen superior izquierda). FPJ: Articulación Patelo Femoral; MP: Rotula Medial; LP: Rotula Lateral; MTr: Troclea Medial; LTr: Troclea Lateral.

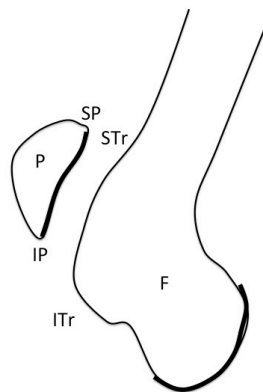


Figura 3. Delimitación regional en Imagen sagital de la articulación fémoro-tibial lateral con secuencia en T1 (imagen izquierda) P: rotula; SP: Rotula Superior; IP: Rotula Inferior; STr: Troclea Superior; ITr: Troclea Inferior; F: Femur. Representación de la graduación del tamaño de las lesiones del cartílago articular (imagen derecha) FTLI: Articulación femorotibial lateral; EDLT: Tendón Extensor Digitorum Longus; A: Anterior; P: Posterior.

Valoración de las Característica Articulares

La valoración de las diferentes estructuras articulares se realizó según las descripciones originales de la escala semi-cuantitativa MOAKS [198][199]. Este sistema evalúa las lesiones en función del tamaño considerando que si una lesión afecta a más de una región está ha de ser valorada en ambas zonas.

Cartílago Articular

El cartílago articular de cada una de las 12 regiones articulares fue evaluado en imágenes con secuencias de supresión grasa potenciadas en T2 TSE y se hizo en función del tamaño de cualquiera de las lesiones, como el porcentaje de afectación en relación a la superficie de la región (0: sin lesión, 1: <10% del área de la superficie condral de la región (SCR), 2: 10-75% de la SCR, 3: >75% de la SCR) y el porcentaje de la región con una lesión de espesor completo (0: ninguno, 1: <10% de la SCR, 2: 10-75% de la SCR, 3: >75% de la SCR). Los valores máximos de afectación del cartílago articular para las articulaciones APF, AFTM, AFTL y para toda la rodilla fueron de: 24, 24, 24 y 72 respectivamente (Tabla 3). La figura 4A muestra una relación entre la valoración del cartílago articular mediante la escala sMOAKS y la escala BLOCKS (ampliamente utilizada y descrita antes que sMOAKS).

Lesión de la Médula Ósea y Quistes

La lesiones de la médula ósea se definieron como zonas mal definidas de aumento de la intensidad de señal en la médula ósea grasa epifisaria en secuencias de supresión grasa potenciadas en T2 TSE. Estas fueron caracterizadas en función del volumen de ocupación en cada una de las subregiones articulares (0: sin lesión, 1: <33% del volumen de la subregion, 2: 33-66% del volumen de la subregion, 3: > 66% del volumen de la subregión), el número de lesiones en una subregión (0: ninguna, 1: una lesión de la medula ósea, 2: 2 lesiones de la medula ósea) (Figura 4B).












BLOKS/MOAKS score for extent of full-thickness loss	BLOKS/MOAKS score for % subregion surface area affected by cartilage loss		
	<10% of area	10–75% of area	>75% of area
0: None	 [1/0] (WORMS 2)	 [2/0] (WORMS 3)	 [3/0] (WORMS 4)
1: <10% of subregion	 [1/1] (WORMS 2.5)	 [2/1] (WORMS 5)	 [3/1] (WORMS 5)
2: 10–75% of subregion		 [2/2] (WORMS 5)	 [3/2] (WORMS 5)
3: >75% of subregion	 Any loss  Full thickness loss		 [3/3] (WORMS 6)

Figura 4A. Relación sMOAKS y BLOKS en la Evaluación del Cartílago Articular. El cuadrante izquierdo muestra el grado de extensión de la lesión y el derecho representa el porcentaje de la subregión afectada por la lesión.

Los quistes articulares fueron definidos como focos de aumento de la intensidad de señal con bordes bien definidos y márgenes redondeados en secuencias de supresión grasa potenciadas en T2 Fast Espín Eco (FSE). Estos fueron graduados en función del porcentaje de quiste que correspondía una lesión de la médula ósea (0: sin lesión, 1: <33%, 2: 33-66%, 3: > 66%). Los valores máximos de afectación de la médula ósea y de los quistes en las articulaciones APF, AFTM y AFTL y para toda la rodilla fueron de: 36, 36, 36 y 108 respectivamente (Tabla 4) (Figura 5).

Osteofitos

Los osteofitos fueron evaluados en 16 zonas de la rodilla: margen anterior y posterior de ambos cóndilos femorales y platillos tibiales, faceta rotuliana y tróclea

medial y lateral, y faceta rotuliana y tróclea superior e inferior. Estos fueron graduados en función de su tamaño (0: sin osteofito, 1: pequeño, 2: mediano, 3: grande) en la secuencias espin eco potenciadas en T1. Los valores máximos de valoración de osteofitos para la articulaciones APF, AFTM, AFTL y para toda la rodilla fueron de: 12, 12, 24 y 48 respectivamente (Figura 6).

Tabla 3

Sistema de Puntuación de la Afectación del Cartílago Articular

Tamaño de la Lesión	% de la Lesión que es de Espesor Completo
0: Ninguna	0: Ninguna
1: < 10 % de SC de la subregión	1: < 10 % de SC de la Subregión
2: 10-75% de SC de la subregión	2: < 10-75 % de SC de la Subregión
3: > 75% de la SC de la subregión	3: > 75 % de SC de la Subregión

(SC: superficie condral)

Tabla 4

Sistema de Puntuación de las Lesiones en Médula Ósea y Quistes Subcondrales

Tamaño de la lesión	Nº de Lesiones	% de la Lesión que es Quística
0: Ninguna		0: Ninguna
1: <33% del volumen subregional		1 <33%
2: 33-66% del volumen subregional		2 <33-66%
3: >66% del volumen subregional		3 >66%

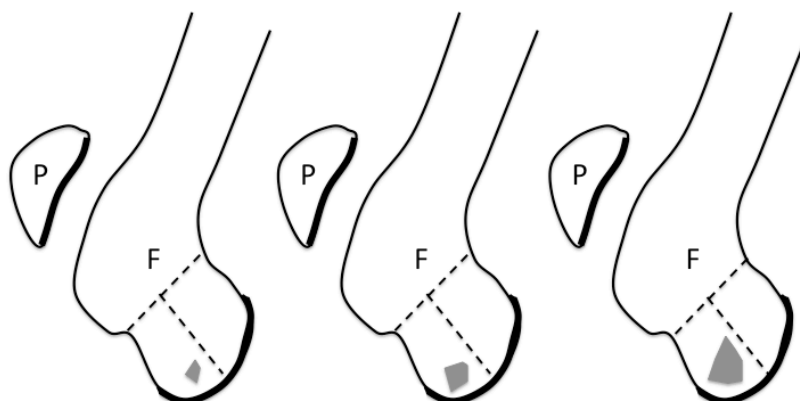


Figura 4B. Escala de valoración de las alteraciones de la médula ósea y de los quistes subcondrales.

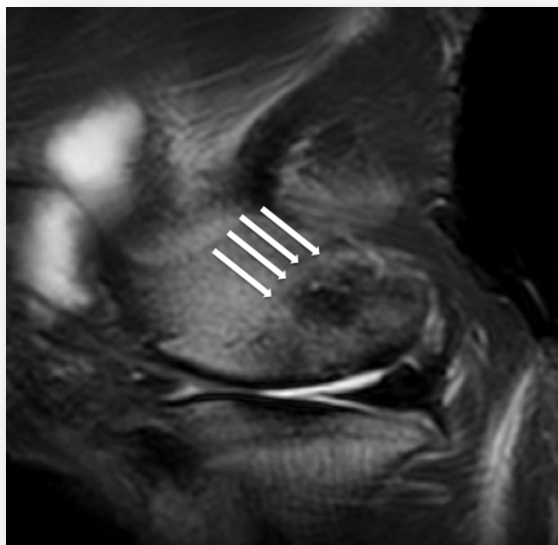


Figura 5. Articulación femorotibial medial, imagen sagital con secuencias T2. Se observa lesión en medula ósea valorada como grado 3/1/0.

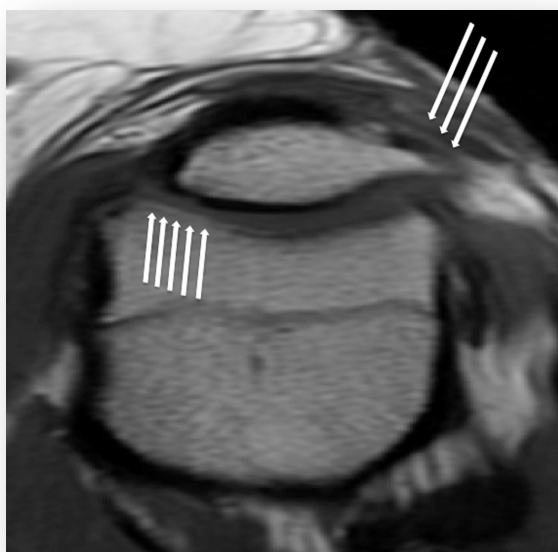


Figura 6. Articulación patelofemoral, imagen axial, secuencia en T2 supresión grasa. Se observa osteofito grado 3 (flecha derecha) y lesión del cartílago articular (flecha izquierda) clasificada como 3/3.

Sinovitis en el paquete Adiposo de Hoffa y Derrame Articular

La sinovitis en el paquete adiposo de Hoffa se definió como la presencia de una imagen difusa hiperintensa en cortes sagitales dentro de la almohadilla grasa y el derrame articular como una señal equivalente a fluido dentro de la cavidad articular en imágenes axiales. Ambos fueron valorados en secuencias de supresión grasa T2/PD/IW en función de su tamaño (0: normal, 1: medio, 2: moderado, 3: grave) (Figura 7) (Figura 8).

Las puntuaciones finales de sMOAKS fueron clasificadas y cuantificadas basándonos en un sistema similar al descrito por Peterfy et al. [355], para la cuantificación del grado de afectación articular en la escala WOMBS (valores independientes de cada característica articular en cada uno de los tres compartimentos, valores acumulados de cada característica en cada compartimento, valores acumulados de cada característica en toda la rodilla y un valor total combinado para toda la rodilla) (Tabla 5).

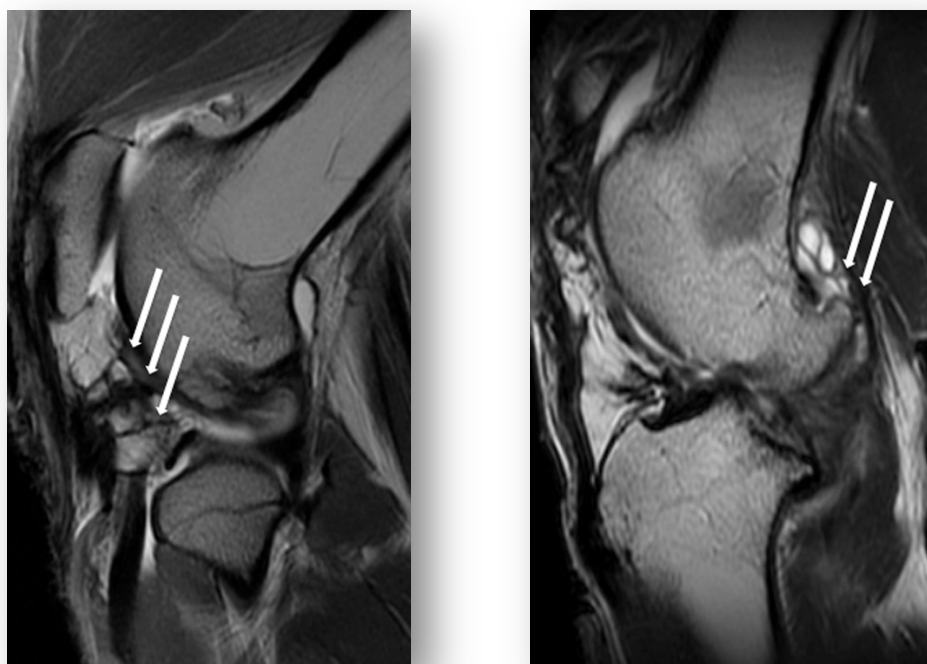


Figura 7. Articulación femorotibial lateral, imagen sagital con secuencias T2. Se observa sinovitis en Hoffa grado 2 (imagen izquierda) y osteofito en cóndilo posterior (imagen derecha) clasificada como grado 3.

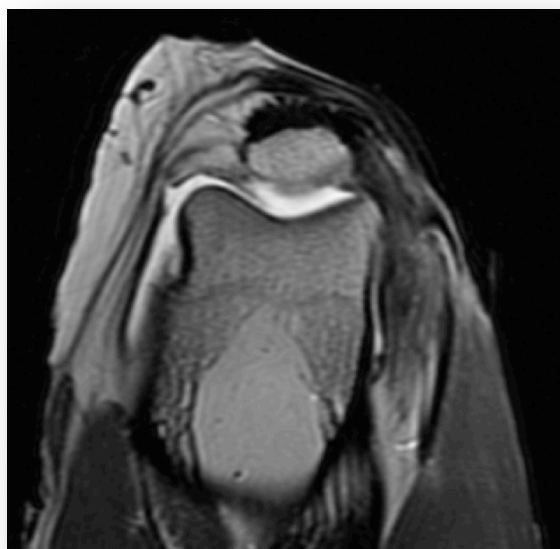


Figura 8. Articulación femoropatelar, imagen axial, secuencia T2 con supresión grasa. Se observa derrame articular en fondo de saco y recesos laterales valorado como grado 2.

Tabla 5
Valores Máximos por Regiones y Global de sMOAKS

	AFTM	AFTL	AFP	Total
Cartílago	24	24	24	72
Medula/Quistes	36	36	36	108
Osteofitos	12	12	24	48
Sinovitis			3	
Derrame			3	
Total Compartimento	92	92	92	
Total				282

Histología

Después del sacrificio del animal se extrajo completamente la rodilla, se desarticuló y se obtuvo la extremidad distal del fémur que se cortó con la sierra. Después se hizo otro corte, dejando el cóndilo externo que se volvió a cortar, coronalmente, por delante a ras de la lesión y también por su borde posterior. Finalmente, se efectuó un corte transversal para dejar la lesión con un grosor máximo de un centímetro y facilitar la decalcificación y posterior corte.

La fijación de las piezas se efectuó en formol, al 4%, tamponado con fosfatos, durante 24 horas. La deshidratación se realizó mediante alcoholes de gradación creciente (70%, 80%, 96% y 100%), cambiando dichos alcoholes cada 12 horas, en agitación constante en un sistema automático (Leica). Posteriormente se introdujeron en xileno durante 4 horas y se incluyeron en parafina a una temperatura de 60°C. Finalmente se realizaron cortes de 4 µm de grosor en un micrótopo convencional (Microm®, Alemania) y se tiñeron con tricómico de Masson y safranina-O.

Se realizó una valoración con las escalas de valoración del OARSI y Mankin, siguiendo las tablas validadas de ambas escalas (Tabla 6) (Tabla 7) por un experto en histología de cartílago. Se obtuvieron dos campos de cada preparación teñidos con tricómico de Masson y Safranina-O, que fueron evaluados de manera ciega.

Estadística

Se realizó un estudio estadístico a partir de los datos obtenidos de la RM por el autor de este trabajo y por dos especialistas en análisis de imagen (RM) del sistema músculo – esquelético. También se realizaron valoraciones histológicas según las diferentes escalas homologadas en la literatura por el autor de este trabajo y un especialista en histología del cartílago articular. A partir de los datos obtenidos se estudiaron las diferencias inter e intraobservador en cada una de las mediciones realizadas. La valoración media, para cada grupo, con las escalas utilizadas para la valoración de la RM. La valoración media, para cada grupo, con las escalas para la valoración microscópica y la correlación entre las escalas microscópicas y las escalas de RM.

Todos los datos fueron transferidos a una base de datos tipo Excel donde fueron analizados y exportados al programa SPSS para Windows versión 12.0 (SPSS, Chicago, Ill) para aplicar los test estadísticos. Los datos fueron tratados como medias con sus correspondientes desviaciones estándar. La concordancia inter-observador se determinó según la frecuencia exacta de cada valoración tratando los datos como variables continuas. Los resultados presentados representan el grado de fiabilidad intra e interobservador (calculados aplicando un kappa ponderado con intervalos de confianza al 95%), el porcentaje de acuerdo del ejercicio y valor total de cada grupo. Se aplicó un Kappa ponderado cuando el grado de desacuerdo se tenía en cuenta y un Kappa normal cuando no era tenido en cuenta. Si los resultados se diferenciaban en un grado, se ponderaba 0,66; dos grados, 0,33 y tres grados 0,00. Las diferencias entre grupos (tanto en RM como en histología) se determinaron mediante un ANOVA de una vía estableciendo el grado de significación estadística como $p < 0,05$. Para establecer la correlación entre la valoración por RM e histología por grupos se utilizó el test de correlación de Spearman.

En la figura 9 se resume el diseño y plan de trabajo de nuestro estudio

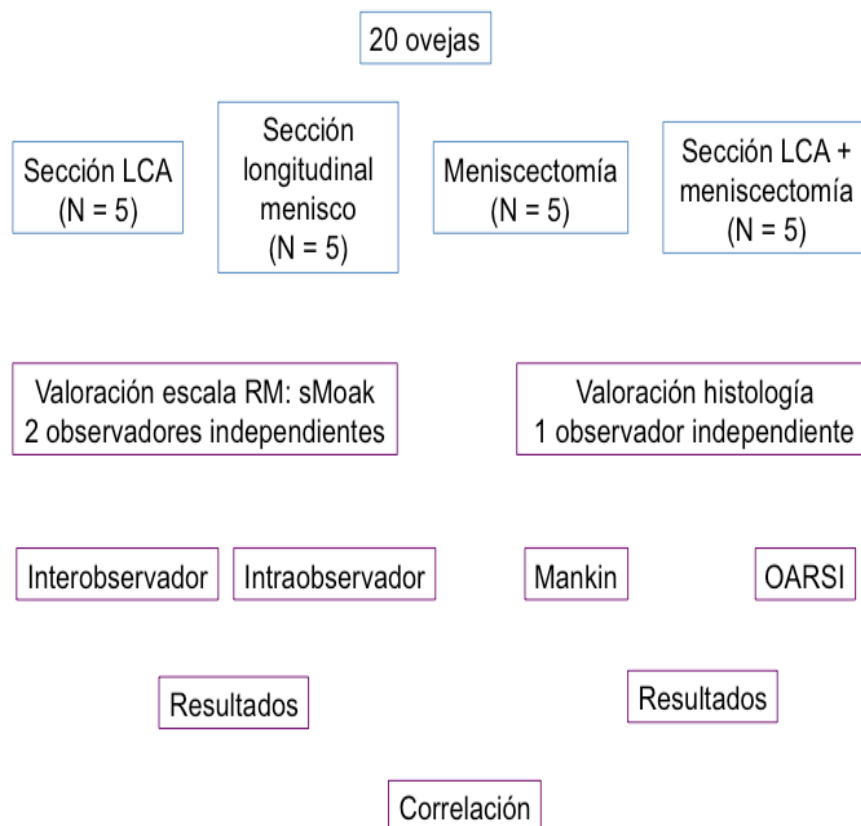


Figura 9. Resumen del Estudio Efectuado.

Tabla 6
Escala de Mankin (HHGS) *

1. Estructura	
Normal	0
Irregularidades superficie	1
Pannus e irregularidades superficie	2
Hendiduras en zona de transición	3
Hendiduras en la zona radial	4
Hendiduras en la zona calcificada	5
Desorganización completa	6
2. Células	
Normales	0
Hipercelularidad difusa	1
Clones	2
Hipocelularidad	3
3. Tinción con Safranina-0	
Normal	0
Poca reducción	1
Moderada reducción	2
Grave reducción	3
No se observa tinción	4
4. Integridad de la “tidemark”	
Intacta	0
Atraviesan vasos	1

**todas las mediciones deben efectuarse en tibia y en fémur, en meseta tibial medial y lateral, y en cóndilo femoral, medial y lateral*

Tabla 7
Escala de Valoración OARSI *

Grado	Criterios Asociados (<i>reacción tisular</i>)
Grado 0: Superficie Intacta Morfología Cartílago Intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada
Grado 1: Superficie Intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda
Grado 2: Discontinuidad en Superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia
Grado 3: Fisuras Verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago
Grado 4: Erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media
Grado 5: Denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea
Grado 6: Deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago

** todas las mediciones deben efectuarse en tibia y en fémur, en meseta tibial medial y lateral, y en cóndilo femoral, medial y lateral*

RESULTS

Imaging Studies

sMOAKS Scale Reliability

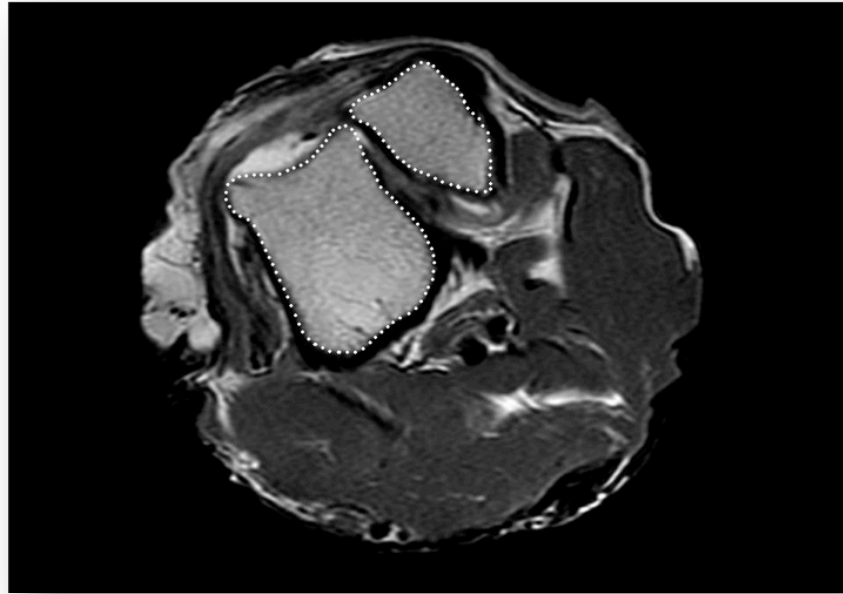


Figure 10. Patellar Dislocation.

Presented results are for intra and inter-rater reliability (calculated using the weighted kappa (95% confidence interval (CI)), the percentage agreement of the exercise and total scores of the different groups. Kappa (k) statistics were used to assess inter- and intra-observer agreement in grading cartilage, bone marrow lesions and cyst, osteophytes, effusion and synovitis. A one-way ANOVA was performed to determine differences among groups with respect to sMOAKS scores in order to evaluate the degree of joint degeneration.

Table 8 presents the reliability of the different joint features evaluated. The poorest reliability was for intra-rater BML size (Kappa= 0.57) and percentage of Cyst (Kappa= 0.58) but the prevalence of this feature was extremely low particularly in the patelofemoral joint. Overall, these preliminary results demonstrate that the proposed scoring system is reproducible.

Table 8
Reliability of sMOAKS

	<u>Intra-Observer</u>		%	<u>Inter-Observer</u>		%
Total Score	0,62	(0,39 - 0,72)	0,63	0,72	(0,44 - 0,79)	0,75
Cartilage						
<i>Area</i>	0,65	(0,47 - 0,77)	0,70	0,71	(0,57 - 0,83)	0,73
<i>Deep</i>	0,61	(0,44 - 0,67)	0,59	0,65	(0,44 - 0,75)	0,67
BML						
<i>Size</i>	0,57	(0,72 - 0,91)	0,53	0,92	(0,67 - 0,97)	0,95
<i>% Cyst</i>	0,58	(0,76 - 0,97)	0,58	0,88	(0,80 - 0,93)	0,85
<i>N° lesions</i>	0,90	(0,88 - 0,92)	0,93	0,95	(0,90 - 0,99)	0,97
Osteophytes	0,65	(0,65 - 0,92)	0,71	0,85	(0,77 - 0,90)	0,86
Synovitis	0,89	(0,65 - 0,92)	0,78	0,83	(0,76 - 0,85)	0,87
Effusion	0,91	(0,79 - 0,92)	0,88	0,90	(0,77 - 0,99)	0,83

(%: percentage of agreement)

Differences between Groups in sMOAKS

As indicated, most of these scores were in the lower quarter of their possible range with the exception of Group 1 (Table 9). Group 1 (ACL transection) was the most affected followed by group 2 (mid-body transection of the medial meniscus), group 3 (ACLt combined with total medial meniscectomy) and group 4 (medial meniscectomy) subsequently. Differences between groups were statistically significant (p 0.038). All groups presented the highest degree of OA in the medial compartment followed by the lateral compartment and the patellofemoral compartment (p 0.045) (Table 3). Table 10 represents the contribution of the different features evaluated to the overall score for all groups expressed as percentages. Bone marrow lesions and cyst contributed less than 1% to the overall score and cartilage lesions more than 80%.

Table 9
sMOAKS Scores per Group and Observer

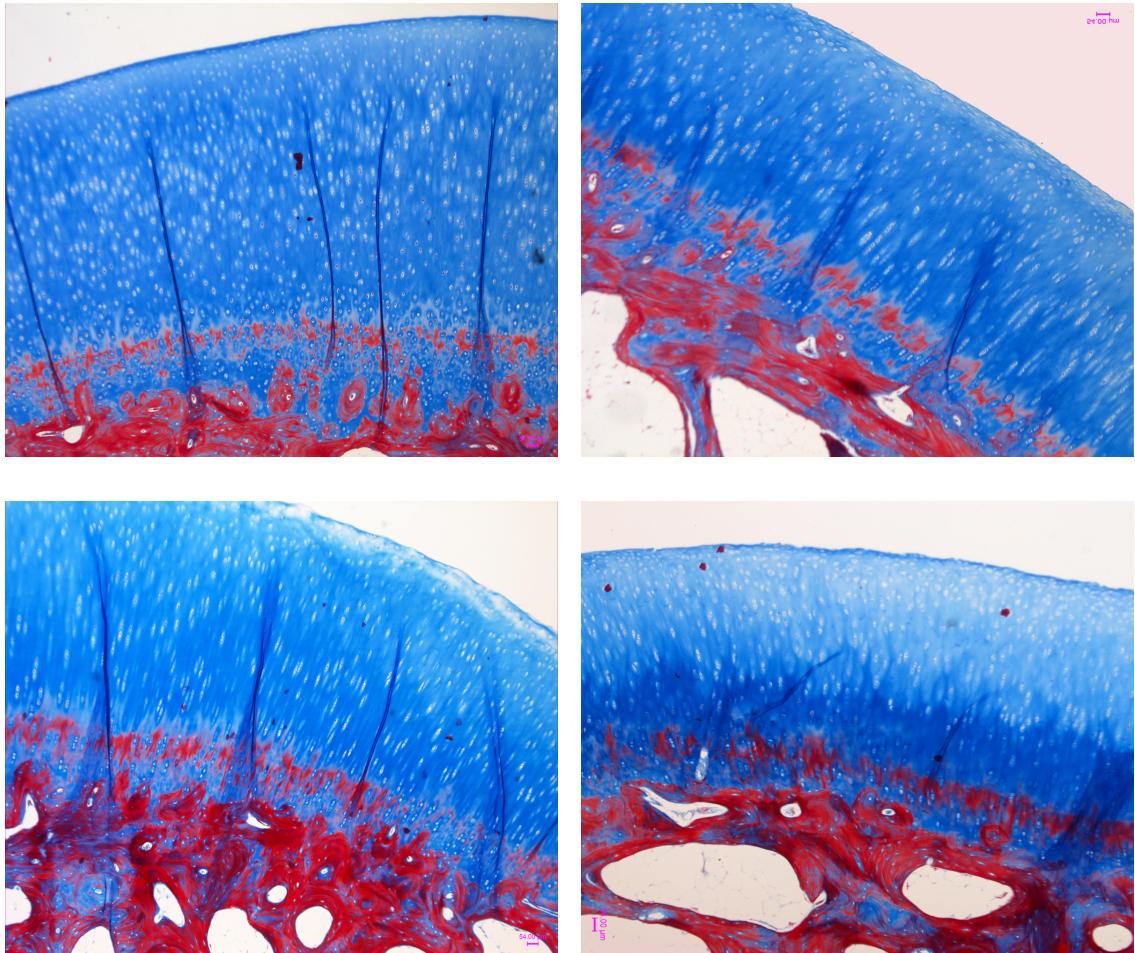
	<u>Observador 1</u>		<u>Observador 2</u>			
	1	2	1	2	Average	Percentage
Group 1 (ACL transection)						
AFP	21,50	22,25	19,75	14,75	19,56	23,2%
AFTL	22,75	17,75	21,75	19,50	20,44	28,3%
AFTM	22,00	23,00	19,50	21,00	21,38	29,6%
Total Group 1					61,38	26,2%
Group 2 (Meniscal Tear)						
AFP	20,00	22,75	19,00	14,00	18,94	22,5%
AFTL	18,00	17,75	19,75	17,25	18,19	25,2%
AFTM	20,00	20,50	19,00	19,25	19,69	27,3%
Total Group 2					56,82	24,2%
Group 3 (ACLt + Medial Meniscectomy)						
AFP	23,25	17,00	18,25	11,50	17,50	21,3%
AFTL	17,50	21,50	15,00	20,00	18,50	25,6%
AFTL	22,50	23,75	21,50	20,25	22,00	30,5%
Total Group 3					58,00	24,7%
Group 4 (Medial Meniscectomy)						
AFP	18,00	12,40	12,40	9,00	12,95	15,7%
AFTL	16,00	12,40	13,80	13,60	13,95	19,3%
AFTM	22,00	19,40	20,40	18,60	20,10	21,9%
Total Group 4					47,00	20,0%
<i>P Value (inter-groups) → 0,038 / P Value (inter-regions) → 0,045</i>						

Table 11
Percentage of Contribution to the Global Score
of the Characteristics Evaluated in sMOAKS

	Total	Percentage	Average (%)
Cartilage	72	30	80
BML/Cyst	108	46	<1
Osteophytes	48	20	19
Synovitis	3	2	<1
Effusion	3	2	1
Total	234	100	23,7
<i>(BML: Bone Marrow Lesion)</i>			

Histological Studies

Results of the Mankin and OARSI scales are presented in Table 11 (Figures 11-21). The group in which ACL was transected presented the lesser grade of cartilage injury followed by the meniscal tear group observing similar results for groups 3 and 4 (medial meniscectomy and ACL transection plus meniscectomy). All groups showed similar values in the evaluation of femoral and tibial cartilage except for group 4 in which the tibial cartilage was more affected than the femoral side. Independent results per animal are showed in Annex 1.



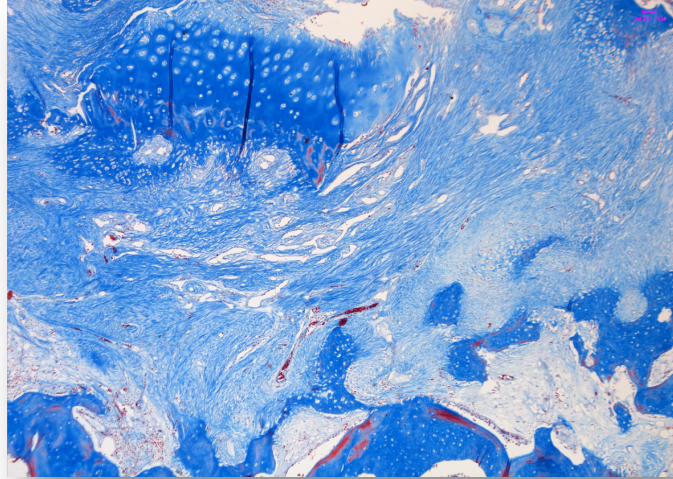


Figure 11. Group 1. ACL Transection. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 1, 2, 3, 4 y 5) (Masson Trichrome, x5). Articular Cartilage Irregularities ranging from fissures, hypocellularity and medial and superficial layers disturbances. Tidemark and Bone Marrow preservation.

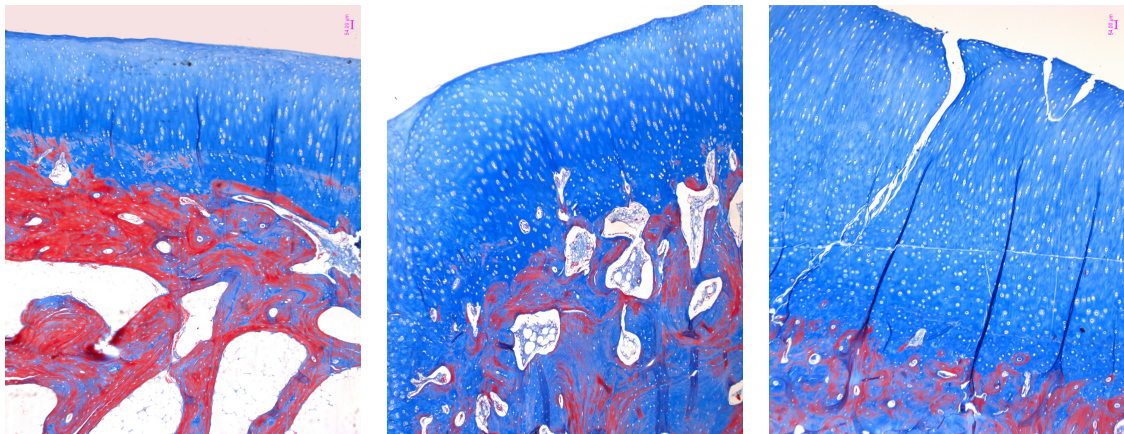


Figure 12. Group 1. ACL Transection. Histologic Samples from the Tibial Surface (animals 3, 4 and 5) (Masson Trichrome, x5). Articular Cartilage Irregularities ranging from fissures, hypocellularity and medial and superficial layers disturbances. Tidemark and Bone Marrow preservation.

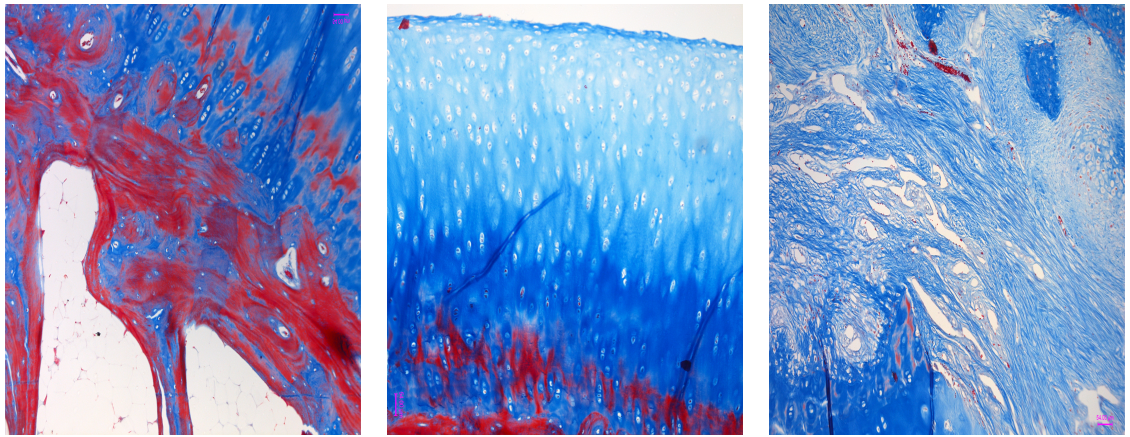
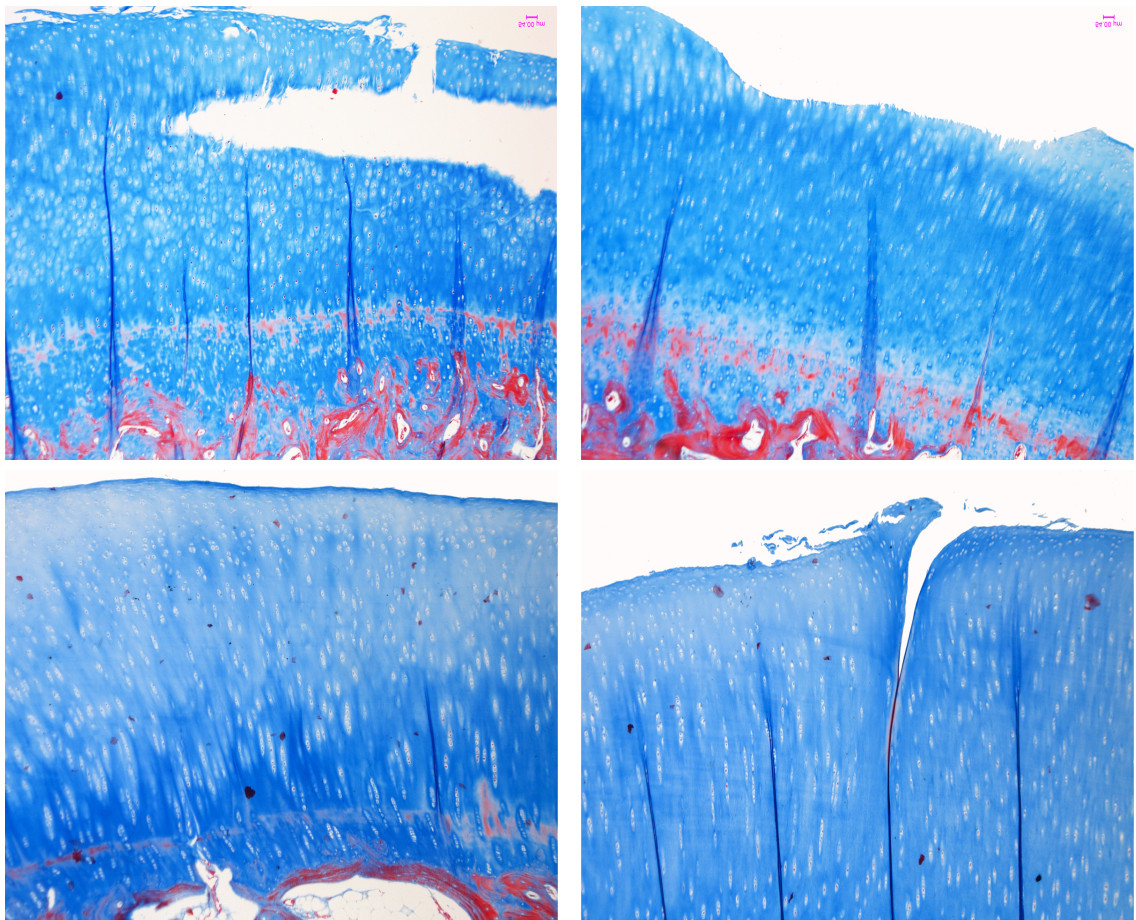


Figure 13. Group 1. ACL Transection. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 3, 4, 5) (Masson Trichrome, x10). Articular Cartilage Irregularities ranging from fissures, hypocellularity and medial and superficial layers disturbances. Tidemark and Bone Marrow preservation.



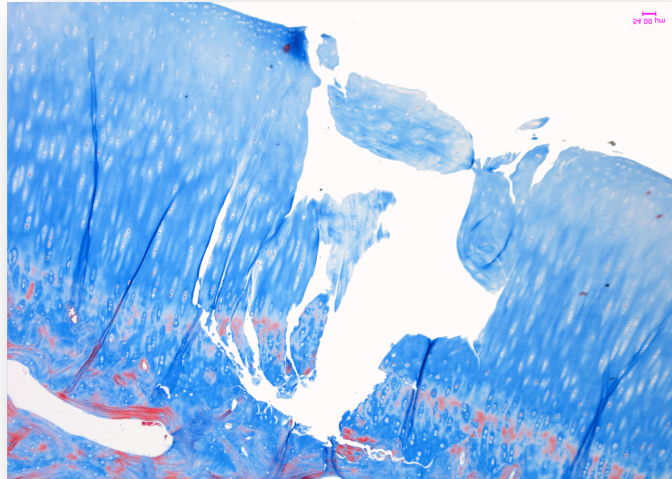


Figure 14. Group 2. Longitudinal Tear of the Medial Meniscus. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 6, 7, 8, 9 and 10) (Masson Trichrome, x5). Severe cartilage injuries with loss of tissue, fissures and increased hypocellularity.

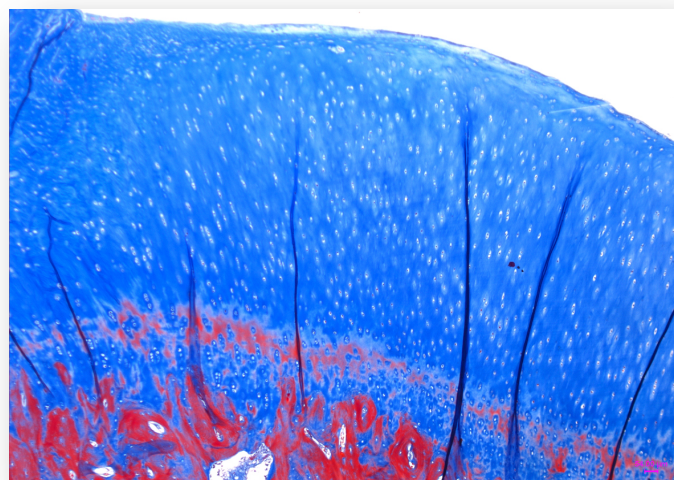
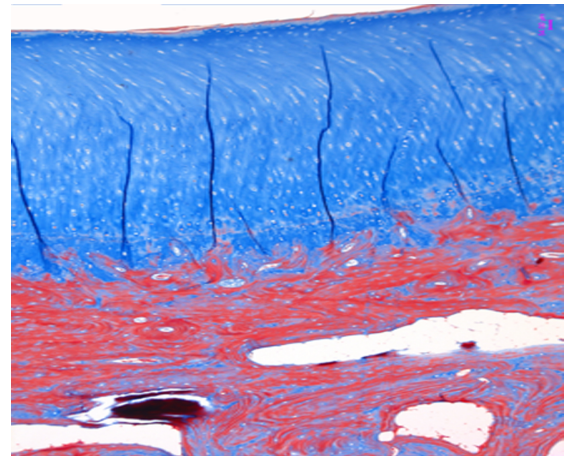
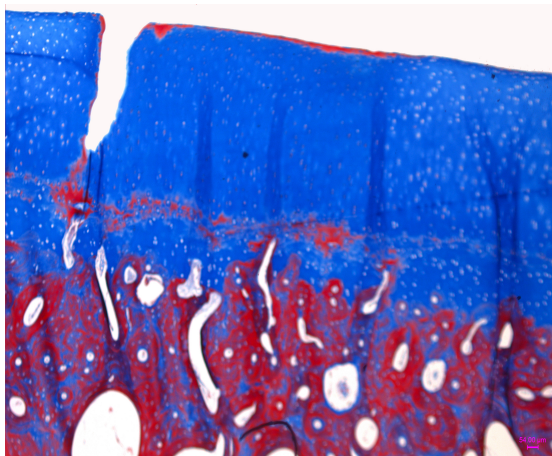


Figure 15. Group 2. Longitudinal Tear of the Medial Meniscus. Histologic Samples from the Tibial Surface (animals 6, 7, 8, 9 and 10) (Masson Trichrome, x5). Superficial layer irregularities with hypocellularity and reorientation of the Articular Cartilage radial fibers.

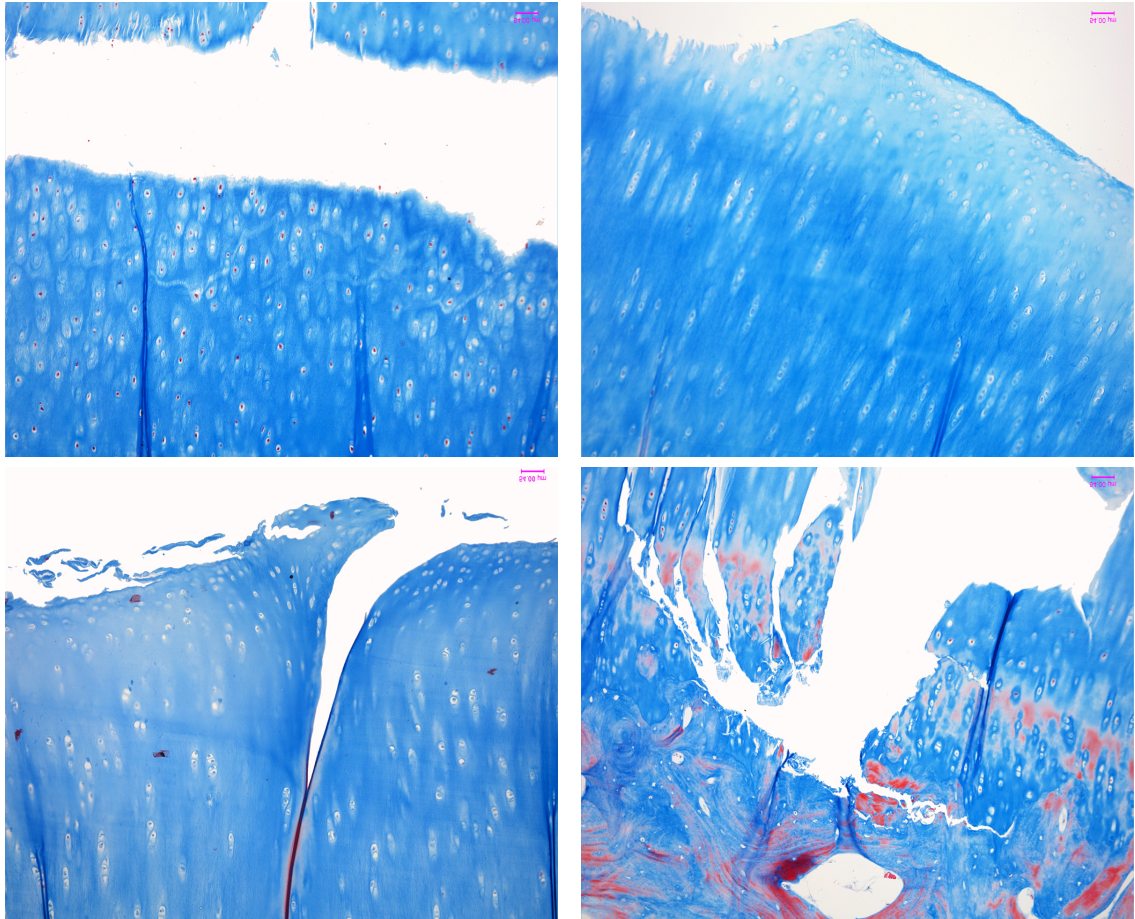


Figura 16. Group 2. Longitudinal Tear of the Medial Meniscus. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 6, 7, 9 and 10) (Masson Trichrome, x10). Cartilage destruction with vertical clefts, absence of tissue and isogenic groups of chondrocytes.

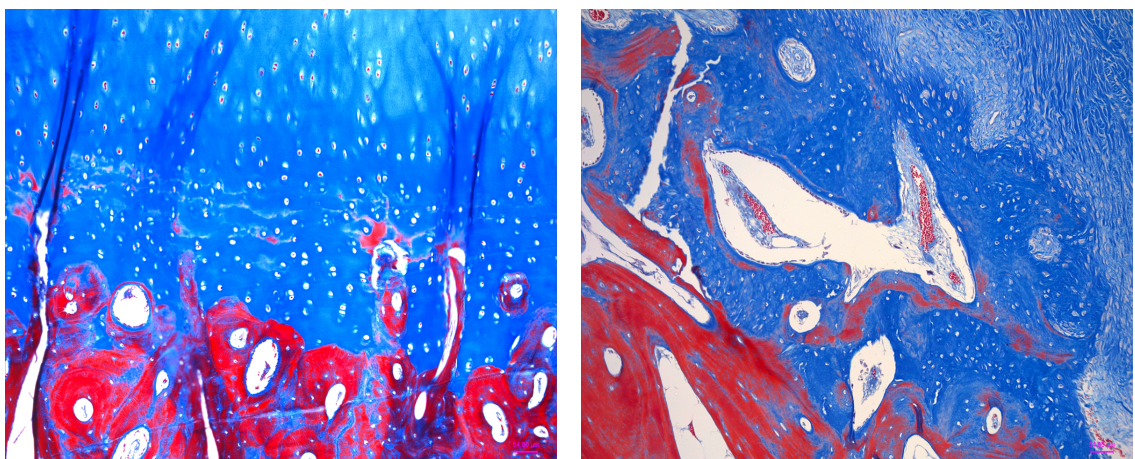


Figure 17. Group 2. Longitudinal Tear of the Medial Meniscus. Histologic Samples from the Tibial Surface (animals 7 and 9) (Masson Trichrome, x10).

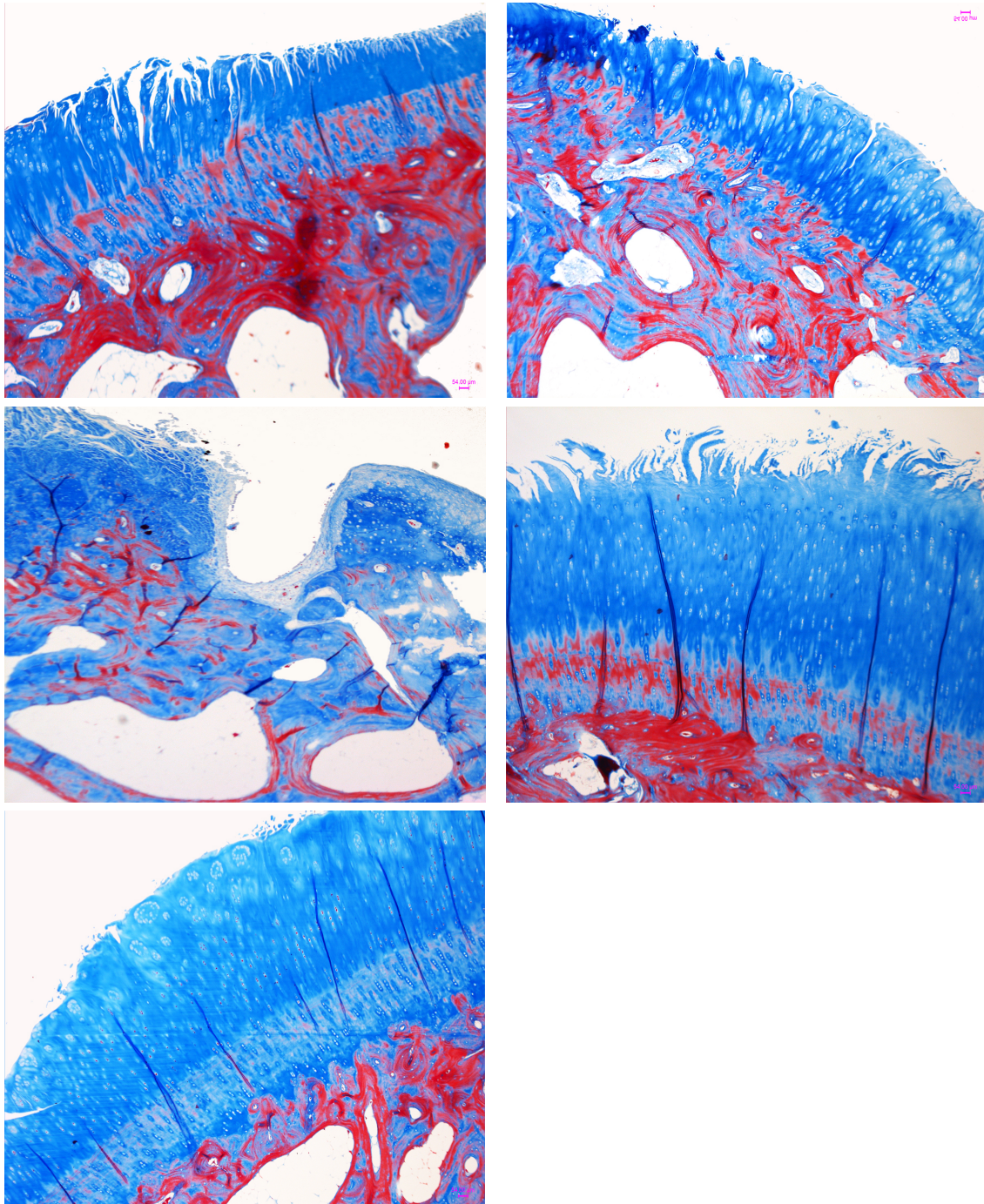
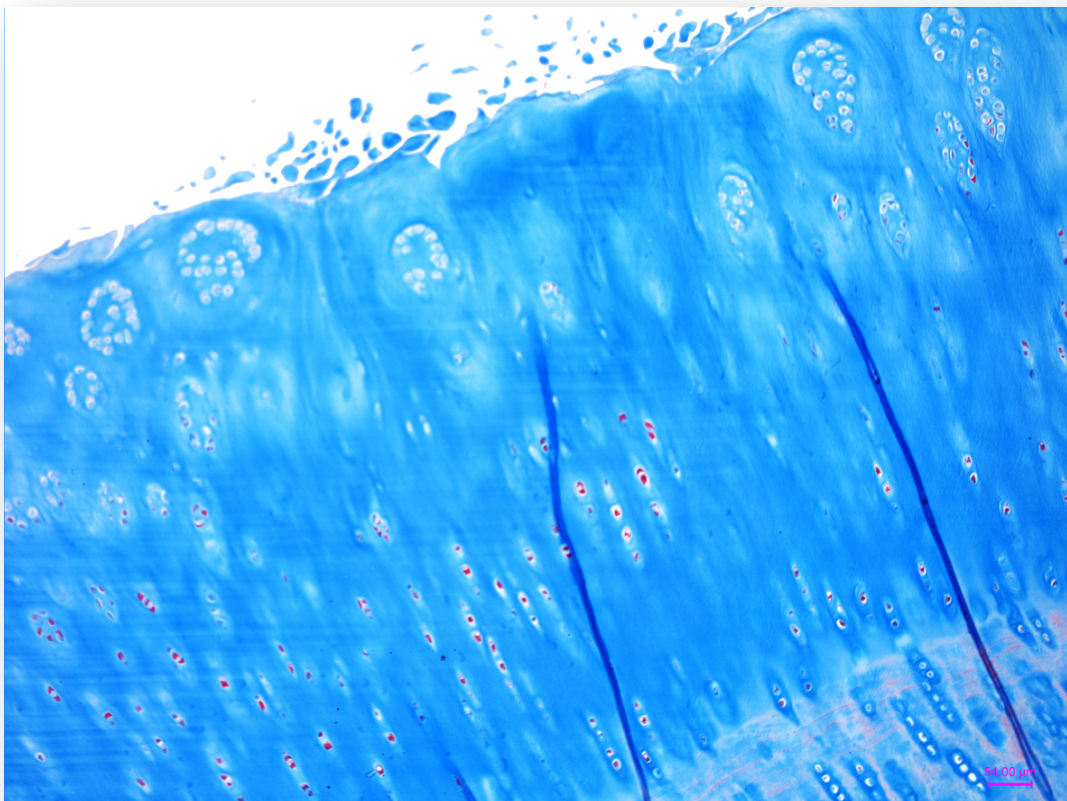
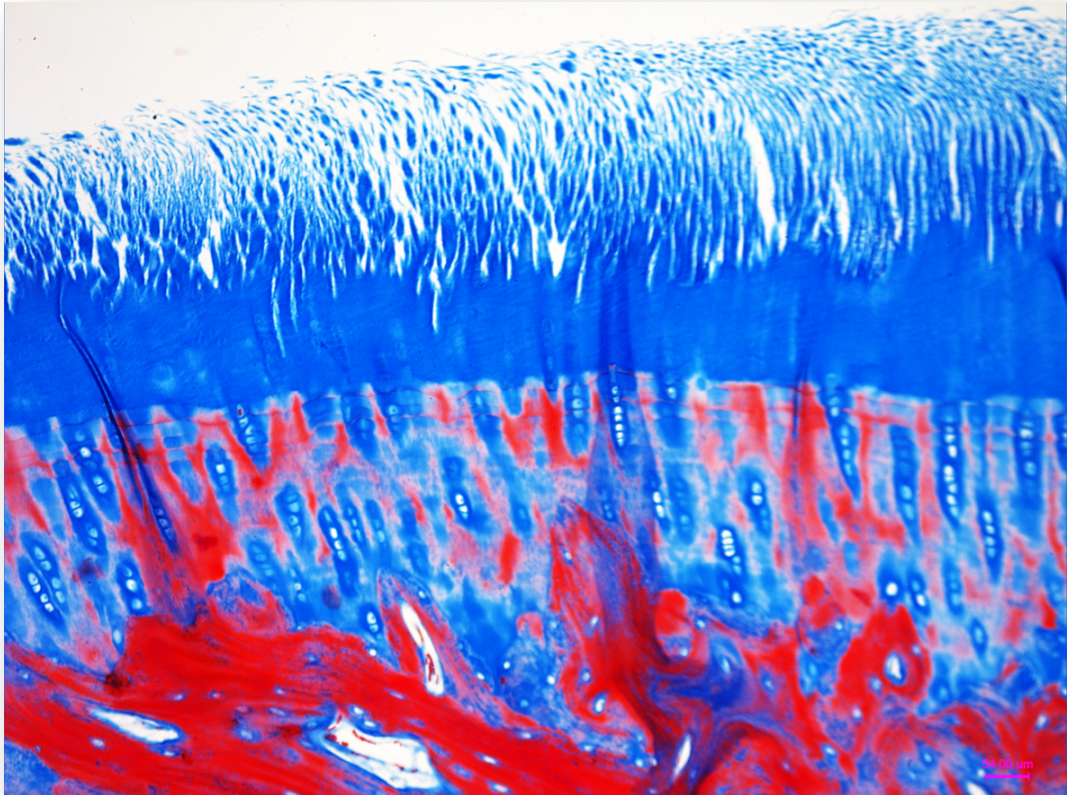


Figure 18. Group 3. ACL transection and Medial Meniscectomy. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 11, 12, 13, 14 and 15) (Masson Trichrome, x5). Superficial and medial layers fibrillation, isogenic groups of chondrocytes pretending to repair the wound. Chondral injury filled with fibrous tissue.



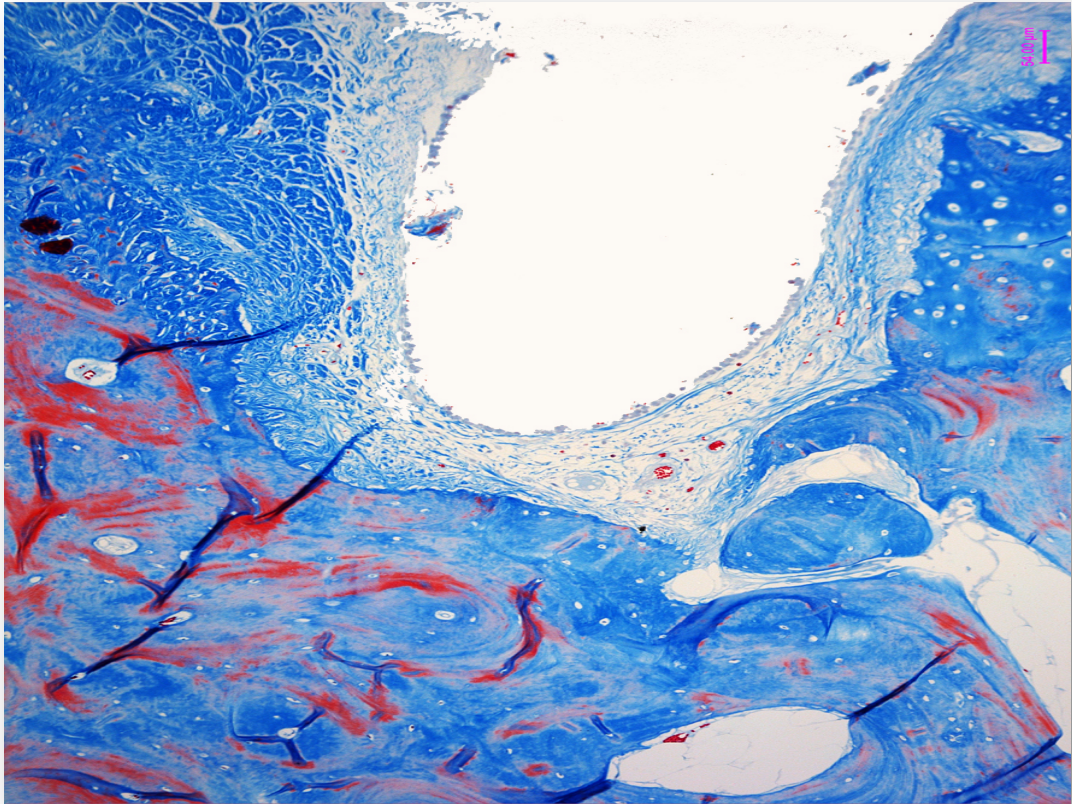
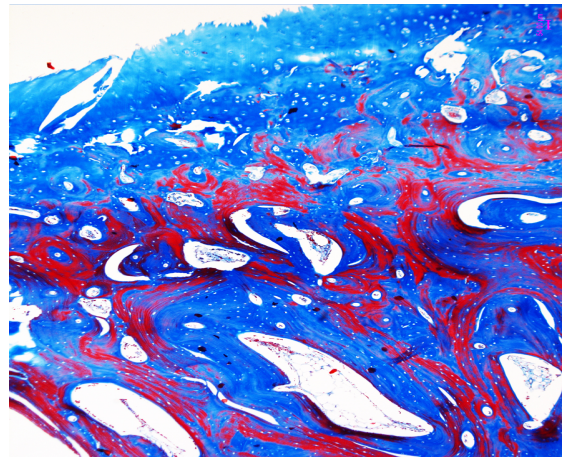
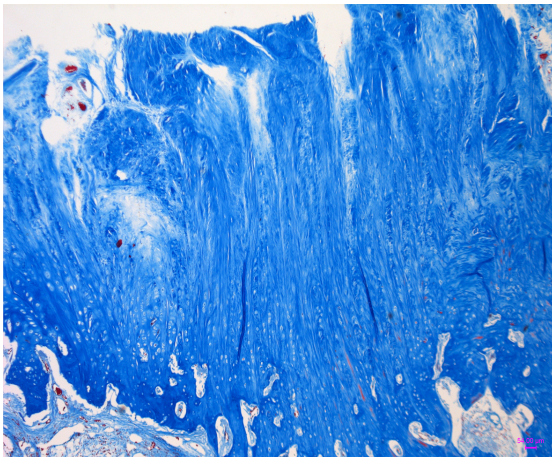


Figura 19. Group 3. ACL transection and Medial Meniscectomy. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 11, 12 and 15) (Masson Trichrome, x10). Cartilage fibrillation, chondral “holes” filled with fibrous tissue and isogenic groups in an attempt to repair the injured cartilage.



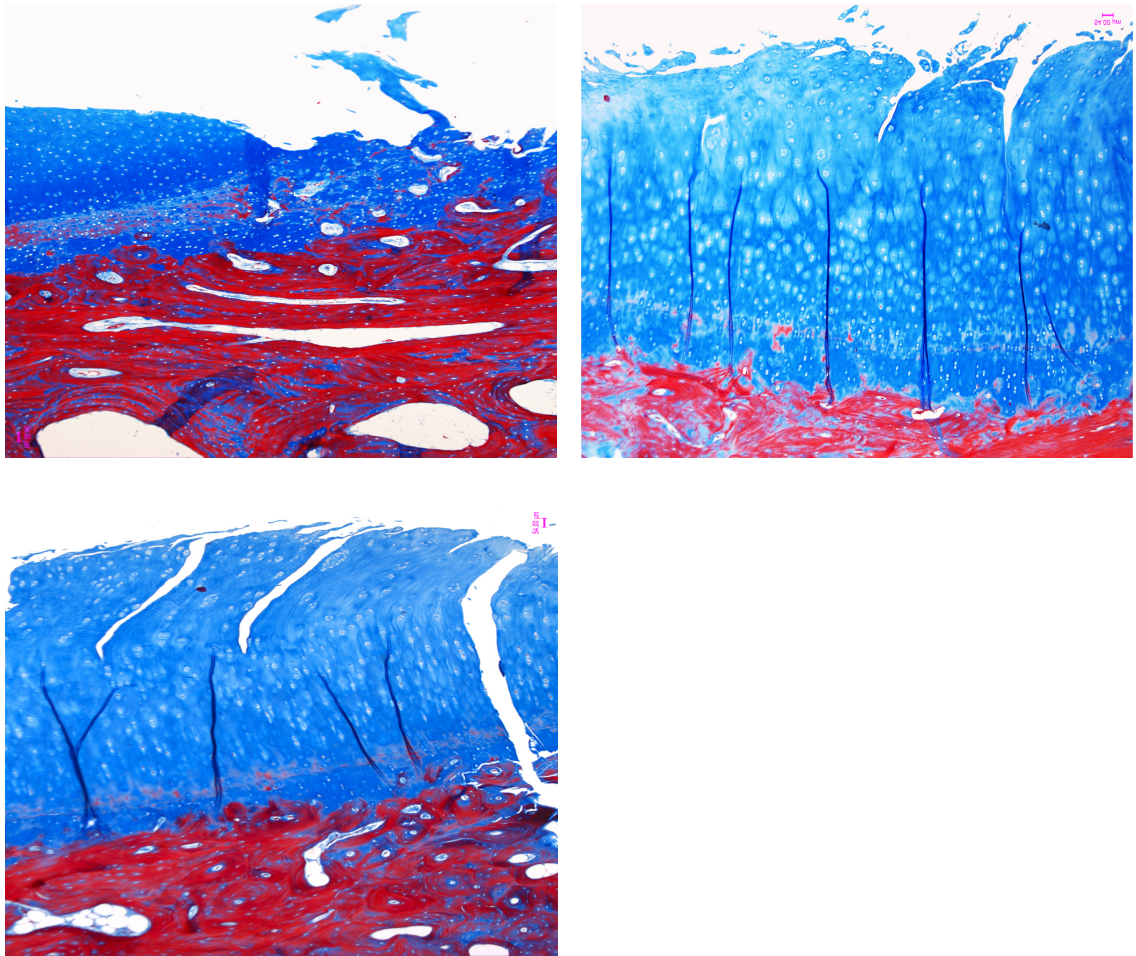
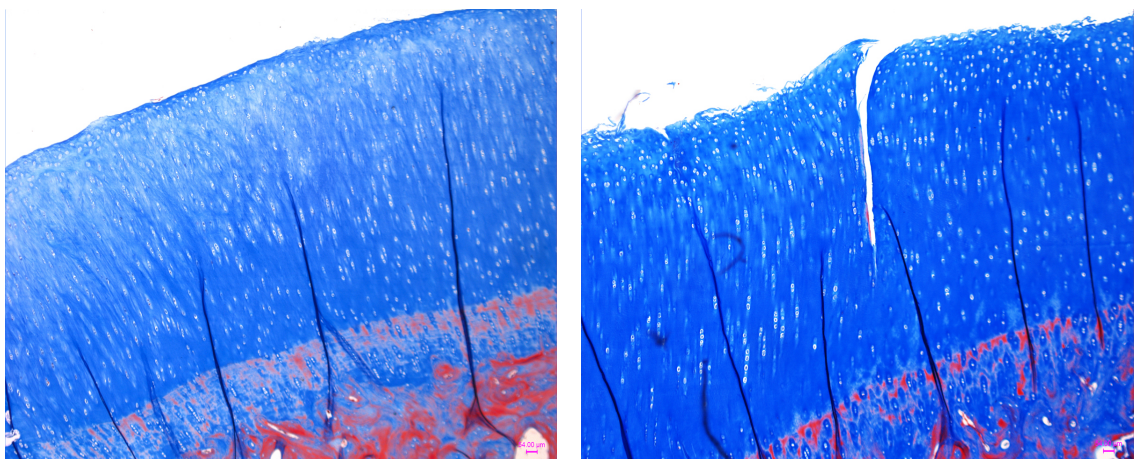


Figure 20. Group 3. ACL transection and Medial Meniscectomy. Histologic Samples from the Tibial Surface (animals 11, 12, 13, 14 and 15) (Masson Trichrome, x5). Cartilage destructure with clefts, fibrillation, hypocellularity and even destruction of the articular surface.



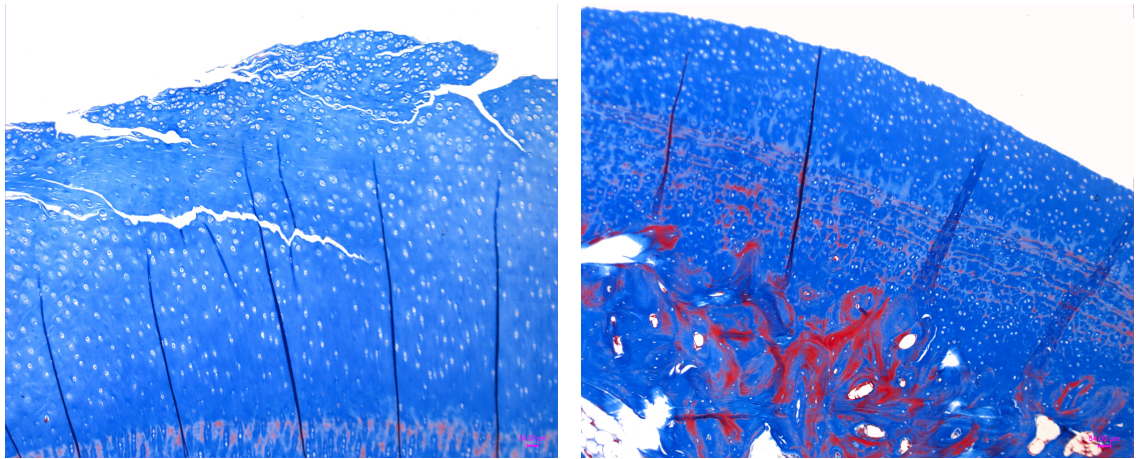


Figure 21. Group 4. Medial Meniscectomy. Histologic Samples from the Femoral Surface (animals 16, 18, 19 and 20) (Masson Trichrome, x5). Vertical Clefts in the Superficial and Medial Layers of the Articular Cartilage with severe Hypocellularity.

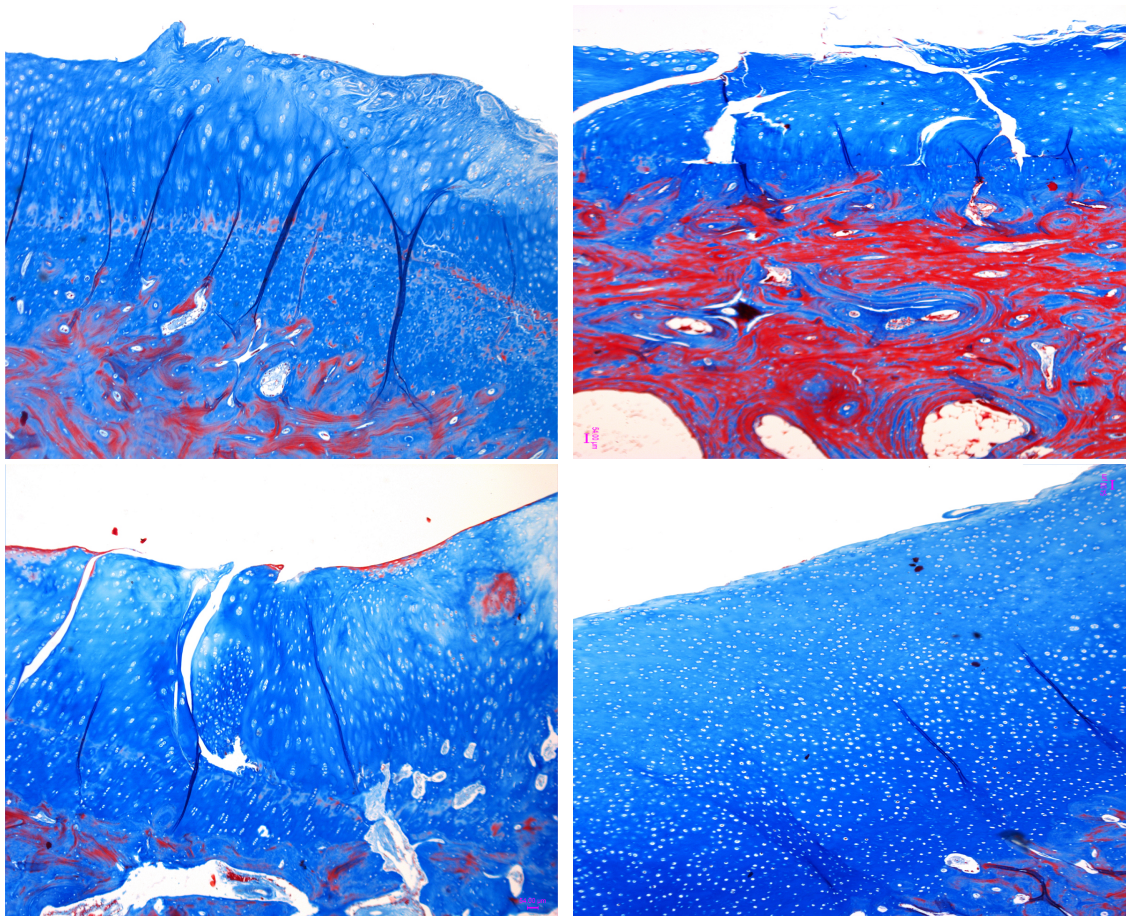


Figure 22. Group 4. Medial Meniscectomy. Histologic Samples from the Tibial Surface (animals 16, 17, 18 and 19) (Masson Trichrome, x10). All images show severe articular cartilage injuries and destruction of the superficial and medial layers, clefts, hypocellularity and clones emergence. Right inferior image shows a more preserve articular cartilage with a high hypocellularity.

Tabla 11

Results from the Histological Evaluation with MANKIN and OARSI Scales

Sheep	Mankin femur	Mankin tibia	OARSI femur	OARSI tibia
Group 1: ACL transection				
1	3	2	1	1
2	0	0	0	0
3	3	2	1	0
4	2	2	1	0
5	9	9	3	3
<i>Total subgroup</i>	3,4	3,0	1,2	0,8
Group 2: Meniscal Tear				
6	6	2	6	0
7	7	12	1	5
8	10	14	4	5
9	6	7	3	1
10	14	8	5	2
<i>Total subgroup</i>	8,6	8,6	3,8	2,6
Group 3: ACLt + Medial Meniscectomy				
11	12	14	4	6
12	13	12	5	5
13	8	11	3	4
14	12	11	4	4
15	10	11	4	4
<i>Total subgroup</i>	11	11,8	4	4,6
Group 4: Medial Meniscectomy				
16	10	13	3	3
17	-	12	-	3
18	8	8	2	3
19	10	14	3	6
20	10	14	3	6
<i>Total subgroup</i>	9,5	12,2	3,5	4,2

P Value (inter-groups) → 0,04 / P Value (inter-regions) → 0,002

sMOAKS and Histological Correlation

The evaluation of articular cartilage according to MANKIN (Figure 23) and OARSI scales (Figure 24) presented a similar behavior in all groups being also similar to the results obtained with the sMOAKS scale (Figure 25). The trending lines of the three graphs are alike.

MRI assessment of articular cartilage presented a significant correlation with the Histological analysis: MANKIN Scale ($r=0,82$; $p<0,0001$), OARSI ($r=0,85$; $p<0,0003$). Although most of the differences were statistically significant some of them are not clinically significant.

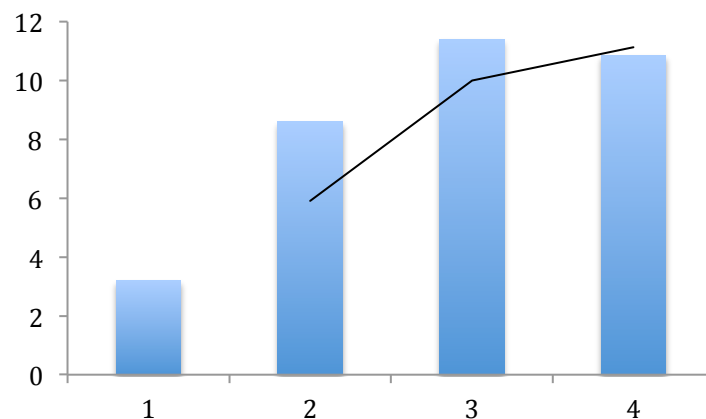


Figura 23. Evaluation of Femoro-Tibial Articular Cartilage with MANKIN Scale per Groups. ANOVA Values presented as averages and standard deviation per groups. Group 1 = 3,2 (2-9), Group 2 = 8,6 (6-14), Group 3 = 11,4 (8-14), Group 4 = 10,85 (8-14). Group 1 / Group 4, $p<0,002$. Group 2 vs Group 3, $p>0,05$. Group 3 vs Group 4, $p<0,002$. Group 2 vs Group 4, $p<0,001$.

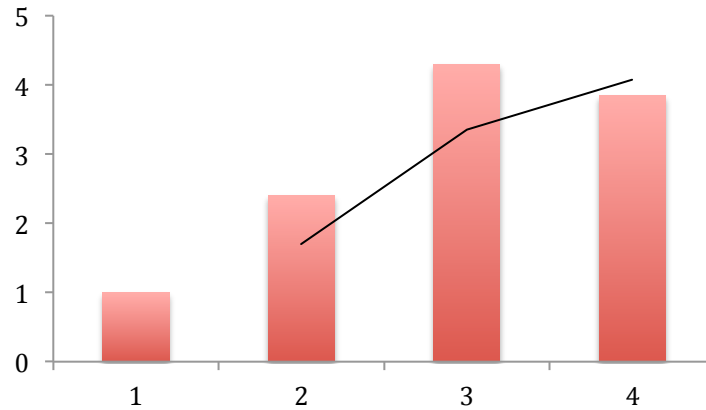


Figura 24. Evaluation of Femoro-Tibial Articular Cartilage with OARSI Scale per Groups. ANOVA Values presented as averages and standard deviation per groups. Group 1 = 1 (1-3), Group 2 = 2,4 (1-6), Group 3 = 4,3 (3-6), Group 4 = 3,85 (2-6). Group 1 vs Group 4, $p < 0,001$. Group 2 vs Group 3, $p < 0,04$. Group 3 vs Group 4, $p < 0,0002$. Group 2 vs Group 4, $p < 0,0010$.

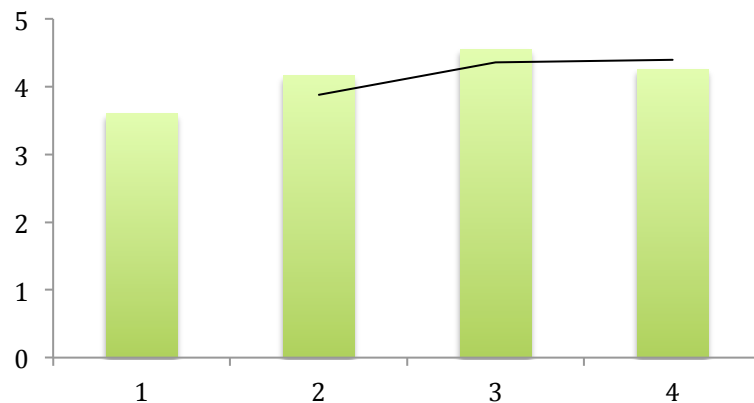


Figura 25. Evaluation of Femoro-Tibial Articular Cartilage with sMOAKS Scale per Groups. ANOVA Values presented as averages and standard deviation per groups. Group 1 = 3,6 (3,32-3,77), Group 2 = 4,16 (3,90-4,5), Group 3 = 4,5 (4,18-4,78), Group 4 = 4,25 (3,96-4,43). Group 1 vs Group 4, $p < 0,004$. Group 2 vs Group 3, $p < 0,0002$. Group 3 vs Group 4, $p > 0,05$. Group 2 vs Group 4, $p < 0,002$.

Global results dont show correlation between the sMOAKS and Histological scales. However, when we only evaluate the articular cartilage of the femorotibial joint we observed similar results with sMOAKS and MANKIN-OARSI scales, so both scales characterize articular cartilage alike.

DISCUSIÓN

Uno de los principales obstáculos en la progresión clínica hacia la solución de la artrosis es la ausencia de un entendimiento claro en los mecanismos que conducen a la iniciación y la progresión de la enfermedad. Mientras que la degradación del cartílago se ha considerado el sello distintivo de la enfermedad, en realidad hay que considerar “la articulación como un órgano”, concepto que está actualmente reconocido como un principio fundamental para la ciencia básica y la evaluación clínica de la artrosis [96][127][354]. Entre los diversos componentes no cartilaginosos de la articulación, se ha visto que los cambios en el hueso subcondral están implicados como pieza clave en la iniciación y progresión de la artrosis [69][251][276]. Las lesiones de la médula ósea subcondral son una de la señas de identidad de la valoración por RM de la artrosis de rodilla. Estas se definen como áreas no quísticas mal definidas en la región subcondral con aumento de la intensidad señal en secuencias ponderadas en T2, densidad protónica ponderada o *fast spin eco* [34][475][477].

Se ha sugerido que la esclerosis del hueso subcondral contribuye a acelerar la degeneración articular por el aumento de las sollicitaciones mecánicas sobre el cartílago articular subyacente [368]. Las lesiones de la médula ósea se suelen observar en conjunción con alteraciones del cartílago articular en la misma región [22][178][197]. Los grados más avanzadas de lesión del cartílago parecen guardar relación con una mayor prevalencia y un mayor volumen concomitante de las lesiones de la médula ósea [233].

A medida que la enfermedad progresa, correlaciona positivamente con el aumento del edema en la región subcondral, el avance de las lesiones del cartílago y la disminución de la interlinea articular [129][200][372]. La esclerosis subcondral se caracteriza histológicamente por el aumento de espesor de la placa subcondral y se ha observado en estadios tardíos de artrosis de rodilla [129][372] y también en modelos animales [45][79][108]. Sin embargo, todavía no se entiende bien la naturaleza de los cambios del hueso subcondral en la artrosis, particularmente en las primeras etapas de la enfermedad. Además, tampoco se sabe si los cambios en el hueso subcondral son una causa o una consecuencia de la degeneración del cartílago articular.

Los modelos animales son imprescindibles para solventar muchas de las claves en el entendimiento y comprensión de la evolución de las lesiones subcondrales en el proceso degenerativo articular así como el diagnóstico precoz de la enfermedad. Sin embargo, la información sobre la patología ósea subcondral en estadios precoces de

degeneración articular en la literatura no son coherentes entre los modelos animales estudiados e incluso entre los estudios que utilizan el mismo modelo. Algunos autores describen que las lesiones del cartílago preceden a las lesiones del hueso subcondral [211][350] mientras que otros sugieren lo contrario [44]. Por tanto, basándonos en la evidencia disponible, no existe consenso sobre el papel de los cambios en el hueso subcondral en los estadios iniciales de artrosis. Recientemente Kuroki et al. [247], demostraron diferencias significativas en los cambios en el hueso subcondral en tres modelos diferentes de artrosis evaluados a las doce semanas de evolución tras la inducción de diferentes lesiones via artroscópica. Estos cambios pueden atribuirse a alteraciones en la carga articular, así como el daño del cartílago articular localizado.

Sin embargo, la experiencia clínica también ha demostrado que la regresión o incluso la completa resolución del edema subcondral se produce en una minoría de pacientes. Los datos publicados disponibles sobre la historia natural de las lesiones de la médula ósea son controvertidos. Kornaat et al. [244], informaron de que en el estudio holandés GARP la mayoría de las lesiones aumentaron o aparecieron a los dos años de seguimiento, pero el 20% de lesiones prevalentes disminuyeron o desaparecieron [244]. En el estudio BLOKS [199], menos de un 1% de los pacientes presentaron una disminución de tamaño de las lesiones de la médula ósea en la articulación tibio-femoral, a los 30 meses de seguimiento. En otro estudio longitudinal con una población de pacientes más pequeña la regresión de las lesiones de la médula ósea se observó de forma más regular [360]. Romer et al. [380], en el estudio MOST concluyeron que la alteración de la médula ósea subcondral, a diferencia del cartílago, es una característica que presenta una gran variabilidad de aparición en pacientes con artrosis o con riesgo de desarrollarla y que la mayoría de las lesiones existentes presentaron regresión o resolución con el tiempo, a diferencia de publicaciones previas. En segundo lugar concluyeron, que la ausencia de las lesiones de la médula ósea estaba asociado con un menor riesgo de desarrollar lesiones en el cartílago adyacente mientras que las regiones con lesiones de la médula ósea de nueva aparición o progresivas mostraron un mayor riesgo de desarrollar lesiones del cartílago. Concluyen que está por determinar si los cambios en la médula ósea subcondral podrían ser el objetivo de algunas estrategias terapéuticas precisando conocer el mecanismo responsable de las diferentes lesiones y su relación con el factor desencadenante (alineación mecánica, lesión meniscal etc.) [91].

La ausencia de lesiones en la médula ósea subcondral en nuestro estudio probablemente se deba al poco tiempo de seguimiento (8 semanas). Nuestros resultados sugieren que existe una posible relación entre el mecanismo desencadenante de la artrosis y la aparición de determinados fenómenos degenerativos, sobre todo en el grupo con sección del LCA. Igualmente observamos que la afectación de la médula ósea subcondral no precede a los cambios degenerativos del cartílago articular. Sin embargo, para determinar la secuencia de aparición de fenómenos degenerativos y su posible relación con el mecanismo desencadenante sería preciso realizar estudios longitudinal con un seguimiento en el tiempo mas largo.

En los últimos años ha habido un interés creciente en el estudio por la imagen del cartílago articular. La evaluación morfológica del cartílago articular a través de secuencias de RM especializadas ha mejorado nuestra capacidad para detectar patología y diferenciar la diferentes estructuras articulares. Las nuevas técnicas de imagen bioquímica, tales como el mapeo T2, secuencias T1rho, RM de sodio y secuencias de retraso de la captación de Gadolinio (dGEMRIC), se han utilizado para evaluar directamente el cartílago articular, con la presunción de que la detección temprana y el tratamiento de la lesiones del cartílago articular puede ayudar en la prevención y progresión de la degeneración articular [445]. Estas modalidades de imagen se han utilizado principalmente con fines experimentales, centrándose principalmente en la cadera y la rodilla. La evidencia sugiere su utilización y aplicación en el ámbito clínico.

Valoración Objetiva de las Artrosis en Clínica

Para evaluar y cuantificar clínicamente el estado de la articulación de un paciente se han utilizado los llamados informes de evolución del paciente, los cuales, analizan aspectos concretos del cuerpo e incluso de un tejido esquelético y tienen la ventaja de considerar la opinión del paciente, valorar su estado y progresión, así como, comparar diferentes estudios o incluso facilitar la realización de estudios multicéntricos.

Entre las escalas de valoración clínicas más comunes están el SF-36 (Medical Outcomes Study 36-Item Short Form Health Survey) [303], el International Knee Documentation Committee Subjective Knee Form (IKDC) [212], la Lysholm Knee Scale o Lysholm [239][274][422], el Modified Cincinnati Knee Rating System (MCKRS) [56], el Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) [32] y el

Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) [29][383][446]. Cada una de estas escalas ha sido sometida a pruebas de valoración en pacientes afectados de lesión de cartílago [30][122][174][239].

Howard et al. [193], analizaron las escalas de valoración aplicadas a un grupo de pacientes intervenidos mediante un implante de condrocitos y las siguieron en el tiempo, observando que el IKDC, Lysholm, KOOS, Cincinatti y SF-36 demuestran los cambios sufridos en el tiempo. El Lysholm y el IKDC eran los que mantenían mayor sensibilidad en el tiempo. Sin embargo, ninguna de ellas demostró ser efectiva para valorar los cambios en la función asociados a una mayor demanda de actividad física. El IKDC y el KOOS-Sports pueden ser las que mejor respondan a evoluciones de largo tiempo, especialmente cuando hay actividades físicas más demandantes.

Generalmente se utilizan diferentes clasificaciones y sistemas para valorar el estado del cartílago articular. Algunas son valoraciones de tipo general (WOMAC, KOSS, Cincinatti, Oxford, IKDC, Lysholm, MCKRS (Modified Cincinatti Knee Rating System), SF-36...) mientras que otras se basan en el estado del cartílago articular de una zona dañada y sirven, sobre todo, para cuantificar el daño y valorar el proceso de reparación. Una de estas escalas es la de la International Cartilage Repair Society (ICRS) [278][280] que se basa en el tamaño y profundidad de la lesión. En esta línea McAdam et al. [298], proponen la escala de valoración de la condropenia (Chondropenia severity score, CSS) (Tabla A Anexo II) que registra un valor para cada una de las zonas anatómicas de la articulación de la rodilla y tiene en cuenta, además, el estado del menisco. Con esta escala, un deportista joven con una lesión aislada de grado III tiene mejor pronóstico que una persona mayor con una degeneración generalizada y una lesión del menisco con grado II.

Valoración de los Estudios por la Imagen

La detección temprana de las lesiones agudas del cartílago es un reto en el tratamiento y prevención de las lesiones condrales focales y, también, de la artrosis. El cartílago no es visible con las radiografías habituales, la RM está limitada y requiere largos tiempos pero es, por otro lado, el método de referencia para el estudio del cartílago por imagen para efectuar un diagnóstico y tomar decisiones terapéuticas previas a una artroscopia. El objetivo principal de estas técnicas debe ser estudiar la morfología de la superficie articular y detectar cambios en la estructura del cartílago [245].

Las técnicas para caracterizar las lesiones del cartílago en humanos son cada vez mejores y están más contrastadas, pero no existe un consenso general sobre cómo interpretar algunos métodos. Se han descrito un buen número de escalas histopatológicas [335], quirúrgicas [135][359] y basadas en la imagen [106][165][184][323][413][462] para determinar el grado de reparación del cartílago. Al contrario que con las escalas histológicas [343][390] y las quirúrgicas [414][440] hay muy pocos estudios que hayan validado las escalas de imagen por RM y, menos todavía, que valoren la correlación entre la imagen con RM para predecir la evolución clínica [107] incluyendo la escala más utilizada, “Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue” (MOCART) [290][291]. Validar los componentes individuales de una escala no invasiva sería el primer paso y el más lógico para entender esta discordancia.

La radiografía convencional y los estudios con TC muestran la rotura de la superficie articular y el grado de desplazamiento de los fragmentos en las fracturas articulares [114][222][431].

En las radiografías se fijan criterios indirectos de una posible lesión de cartílago como es el estrechamiento del espacio articular, la aparición de osteofitos, deformación ósea o signos inflamatorios, todo ellos tardíos y con pocas posibilidades de efectuar un tratamiento eficaz.

La evaluación de Kellgren y Lawrence [230] (Tabla B Anexo II), fue el primer intento de valorar objetivamente la degeneración articular con radiografías, basado en la descripción de los osteofitos y osículos periarticulares, el estrechamiento del espacio articular, los pseudoquistes escleróticos subcondrales y los cambios en la morfología de los extremos óseos que hoy se siguen considerando como factores propios de una alteración grave de la articulación.

Radiográficamente se han efectuado muchas clasificaciones, poco precisas y difíciles de clasificar con exactitud. Se aprecian claramente los valores extremos pero resulta difícil situar los tipos intermedios. Para evaluar los cambios degenerativos radiográficos en el codo, Broberg y Morrey [51] propusieron un sistema de clasificación, grado 0 = codo normal; grado I = ligera pérdida del espacio interarticular con pocos osteofitos; grado II = moderada pérdida del espacio interarticular con moderada formación de osteofitos y grado III = graves cambios degenerativos con gran destrucción articular. Por su parte, Hastings y Graham [180] realizaron una clasificación radiográfi-

ca de las osificaciones heterotópicas del codo y del antebrazo: tipo I = osificaciones heterotópicas sin limitación funcional; tipo II = limitación en uno o dos planos y tipo III = anquilosis articular.

Aún sabiendo que la escala de Kellgren y Lawrence tiene una gran variabilidad intra e interobservador (85 – 31% de errores de observación) se sigue utilizando en numerosos estudios para analizar la evolución de un paciente o el efecto en un ensayo clínico [29]. Por ello, surgieron otros baremos como el propuesto por Altman y Gold [8] o Nagasoa et al. [321], que han procurado crear subcategorías y disminuir la variabilidad inter e intraobservador aunque no se ha encontrado una buena correlación entre estas escalas y los hallazgos encontrados por artroscopia [232-235][453]. Sin embargo, la evaluación radiográfica computerizada para conocer la degeneración articular ha mejorado la reproducibilidad de los observadores (0,5 – 0,99) y ha permitido que se utilicen con mayor fiabilidad en ensayos clínicos [97][288][416]. No conviene olvidar que la posición del paciente influye mucho junto con la técnica radiográfica utilizada.

Aunque sea relativamente poco sensible, la radiografía simple ha sido el método más utilizado para valorar los cambios estructurales del cartílago y para definir la artrosis. Se deben tomar varias medidas en una radiografía, como la distancia entre huesos para valorar la disminución del espacio articular, pero para los estudios que requieran clasificar o graduar la gravedad de la artrosis en la rodilla, se utiliza frecuentemente un sistema simple de comparación visual con un estándar. El primer método estandarizado para determinar la artrosis de rodilla radiográficamente fue desarrollado por Kellgren y Lawrence [230] (Tabla B Anexo II), basado en la valoración global combinando múltiples características. Se dio un mayor énfasis a la presencia de osteofitos, que a la disminución del espacio articular [230], lo cual resultó incongruente con la descripción radiográfica de la artrosis empleada por estos [419]. Por el contrario, Altman et al. [8], desarrollaron un sistema de valoración basado en características individuales de los compartimentos tibio-femorales. Tal escala, con características ordinales e individuales resultó ser mas sensible para identificar la progresión de artrosis tibio-femoral [419].

La radiología convencional ha sido utilizada durante muchos años para evaluar la degeneración articular a pesar de sus limitaciones y la falta de sensibilidad para detectar cambios precoces. La radiología seriada en el tiempo ha permitido conocer los cambios que se iban produciendo fijándose en aspectos secundarios como es el

espacio interarticular y otros aspectos secundarios como la aparición de osteofitos [45]. Pero el estrechamiento del espacio interarticular no se produce hasta que el proceso ha avanzado lo suficiente como para dificultar un tratamiento efectivo [218]. Los cambios degenerativos iniciales implican un daño microestructural sin cambios importantes en el volumen de cartílago [2][435].

Uno de los mayores obstáculos para el desarrollo de técnicas terapéuticas en el tratamiento de la artrosis ha sido la ausencia de pruebas de valoración no invasivas [59][117-119][373-375][354][355][445]. A pesar de los grandes avances logrados en la última década en las técnicas radiográficas [45][58][375][448][466] estas han fracasado por su incapacidad para delinear correctamente el cartílago articular. Además, se trata de una técnica en la que la proyección transforma imágenes tridimensionales en imágenes bidimensionales [117][373][375].

La tomografía computarizada con tubo cónico (Conical Beam Computerized Tomography, CBCT) utiliza un tubo de rayos-X cónico que cubre un gran volumen de tejido con una rotación sobre el paciente. Debido a las diferencias en la geometría de la imagen y de la colimación de los rayos – X la dosis de radiación es mucho menor que con la RM helicoidal y está indicada especialmente para el diagnóstico de las lesiones meniscales y del LCA con exactitudes entre el 81 – 98% y entre el 69% - 98% de especificidad y sensibilidad respectivamente [328]. Aunque en el diagnóstico de las lesiones del cartílago su sensibilidad y especificidad está entre el 69% - 74% y entre el 78% y el 95% [232][416].

El método de artro-TC precisa de la inyección de contraste en la articulación y se ha utilizado en lesiones condrales con una sensibilidad entre el 80% - 94% para lesiones de grado 2 en el hombro [259] y sensibilidad del 82% en la muñeca [371]. Kokkonen et al. [242], investigaron la fiabilidad de la artro-TC para el diagnóstico clínico de las lesiones de la articulación de la rodilla comparada con la radiografía y RM; la alta resolución y el bajo coste de la artro-TC puede ser una alternativa para el diagnóstico de las patologías articulares.

El dGEMRIC (Delayed Gadolinium enhanced MRI of Cartilage) es una técnica que detecta la disminución de proteoglicanos en el cartílago [25][71][173] y utiliza gadolinio (Gd-DTPA2) como un anión móvil que conecta con las particiones a través del cartílago en relación inversa a la densidad carga negativa inducida por los proteoglica-

nos [26][27][70]. La disminución de la concentración de proteoglicanos en artrosis se demuestra por el aumento de difusión del agente de contraste en el cartílago, visto como un acortamiento del tiempo de relajación en T1 [427].

La técnica referida como TC de contraste aumentado (contrast enhanced computed tomography (CECT)) es un método de TC equivalente al dGEMRIC y se ha aplicado a numerosos estudios experimentales [21][409-411].

La idea de las imágenes de TC retardadas del cartílago se ha introducido recientemente y los estudios en cadáveres se han obtenido utilizando contraste con 10 minutos de retraso [407][443], viendo como correlaciona con el contenido de proteoglicanos del cartílago. En otro estudio [187] se comparó el artro-TC retardada con el dGEMRIC en un grupo de pacientes con distintas gravedades en la patología del cartílago, viendo como las particiones adquiridas con las dos técnicas correlacionan a los 45 minutos de la inyección. La indicación de la artro-TC retardada se ha recomendado para demostrar comunicación entre la cavidad articular y un quiste óseo; la radiografía obtenida entre 1 y 2 horas después de introducir el contraste observando como el contraste se pierde fuera de la cápsula [283][342].

Kokkonen et al. [241], propusieron la TC retardada tras inyección de un contraste aniónico intraarticular, efectuando ejercicio durante 2 ó 3 minutos recomendando efectuar un TC antes de la inyección del contraste; otro inmediatamente después de la inyección y el último a los 30 minutos, ya que en este periodo de tiempo el contraste no se diluye demasiado y la sensibilidad técnica es máxima. Observaron mayor captación de contraste en rodillas artrósicas.

Desde la introducción de la RM, en 1980, se han publicado numerosos estudios con resultados alentadores en cuanto a la capacidad de esta para evaluar el cartílago. Con el objetivo de ahorrar costes se esperaba que la RM se convirtiera en una prueba no invasiva con mínima exposición a la radiación. Con el tiempo se han dado a conocer numerosas técnicas y secuencias para la detección de lesiones en el cartílago, como T1 SE, T2 SE, 2PD SE (con y sin supresión grasa), T1 TSE (turbospinecho/fast spinecho), T2 2D/3D (TFE/ GRE), T1 3D GRE, con o sin supresión grasa, técnicas de magneto transferencia, con y sin sustracción, imágenes de difusión pesada y técnicas de artroresonancia.

A diferencia de la radiología convencional, la RM es capaz de visualizar directamente el cartílago articular, debido a su delgada y compleja morfología, su corto tiempo de relajación transversa (T2), y la presencia de varias fuentes potenciales de distorsión, especialmente el hueso. El cartílago supone un reto de visualización para la RM, retos que son todavía mayores en situaciones de artrosis, ya que la señal cambia, existe fibrilación superficial, adelgazamiento tisular, y la apariencia que adopta el tejido reparado y la presencia de osteofitos dificulta mucho delinear correctamente el cartílago. A pesar de ello, los grandes avances en RM e imagen digital han revolucionado la valoración no-invasiva de la morfología del cartílago articular, volumen y espesor. Estas técnicas han proporcionado nuevos puntos de vista respecto a los determinantes fisiológicos de la morfología del cartílago articular permitiendo conocer el impacto de algunos de ellos, como el sexo [87-89][112][219], la edad y la madurez esquelética [63][89][112][195][196][217-219][228], el peso y la talla [58][87][112] [118][119][117][152] [195][196][217][329], el índice de masa corporal (IMC) [86], el número del calzado y la longitud del miembro inferior [NISHIMURA], el tamaño del esqueleto de la rodilla [118] [59][89][118][119][152], la densidad mineral ósea [86], el área de la sección muscular [110][217][89][118][119][329], la masa muscular [86], el miembro dominante [118], el grado de ejercicio físico [88][118][186][220][440], el momento de adducción de la rodilla [213], los sustitutos de estrógenos [456], la testosterona sérica [89] y la genética [197][408].

La RM ofrece una oportunidad única para caracterizar la degeneración del cartílago articular en la artrosis y otros procesos patológicos y evaluar los efectos del tratamiento médico o quirúrgico en la evolución de la enfermedad, en la investigación clínica y, eventualmente, también en la práctica clínica [356][357][117].

El estudio del cartílago con RM ha permitido desarrollar escalas de valoración y diferentes metodologías para resaltar y analizar las lesiones del cartílago, desde lesiones de tamaño pequeño a otras más extensas. Una escala de valoración debe de ser factible de aplicar y reproducible dentro y entre diferentes observadores en distintos tiempos. Una valoración elemental con pocos parámetros debe en teoría tener un alto grado de concordancia intra e interobservador mientras que sistemas de valoración más complejos permitieron la discriminación de diferencias menores. Por tanto, la alta fiabilidad intra e interobservador y la correlación interna de los sistemas de valoración sugerirían si las herramientas son eficaces para caracterizar de forma no invasiva el cartílago o no.

Por ello, existe un interés cada vez mayor para utilizar técnicas cuantificables sobre la RM, lo que se ha dado en llamar la RM cuantitativa (qMRI) para conocer la degeneración articular en estadios iniciales, determinar la evolución del proceso e incluso efectuar estudios multicéntricos. La RM cuantitativa determina los cambios morfológicos, incluido el volumen de cartílago perdido [195][429] y los cambios moleculares como son la anisotropía de las fibras de colágeno y el agua y su contenido de proteoglicanos [105] [314] [315]. De hecho, el Osteoarthritis Initiative (OAI) ha recogido datos por medio de qMRI de cartílago dañado con el “*double echo steady state*” (DESS) y secuencias T2 mapping. El DESS ofrece información volumétrica mientras que el T2 mapping determina aspectos relacionados con el contenido de agua y orientación de las fibras de colágeno [117][314][315].

Jørgensen et al. [221], analizaron los cambios del grosor de cartílago utilizando el mapeo en T2. Analizaron 267 rodillas, de 135 personas, con un seguimiento mínimo de 21 meses, utilizando un sistema automático para segmentar el cartílago y cuantificarlo. En las rodillas artrósicas se obtuvo un 3,7% de pérdida de cartílago anual en el cóndilo femoral interno. Los mayores cambios aparecieron en la parte posterior del cóndilo interno del fémur. En el cartílago tibial interno, el grosor aumentó un 0,4%. En otro estudio previo sobre 16 pacientes artrósicos realizado durante tres años, la pérdida anual media de volumen de cartílago fue del 0,5% [154] mientras que en un estudio [86] en 117 pacientes artrósicos, seguidos durante 2 años, la pérdida anual fue del 6 – 8%. Estas diferencias pueden verse afectadas por la propia población de estudio, la calidad de las imágenes, las herramientas utilizadas para el análisis de la imagen y la experiencia de los investigadores.

Para conseguir una lectura más exacta con RM, Eckstein [117] y Wirth [463], propusieron dividir las superficies articulares en subregiones para medir el grosor de cartílago. La tibia la dividieron en 5 subregiones y la zona de carga femoral en tres subregiones (central, medial y lateral). Con esta metodología diferentes estudios, tanto longitudinales como transversales, han demostrado que el grosor del cartílago articular no se afecta por igual en las rodillas artrósicas [57][183][149][463][464]. De hecho, Wirth et al. [463], observaron que la pérdida de cartílago era mayor en las zonas centrales comparado con las superficies fémoro-tibiales, mientras Buck et al. [57], encontraron que una proporción grande de rodillas artrósicas Kellgren – Lawrence tipo 2 tenían un aumento del grosor del cartílago, debido, posiblemente, a la hipertrofia o inflamación en una o más regiones fémoro-tibiales. Wirth et al. [464], repitieron el tra-

bajo analizando de delante a atrás señalando que las zonas más afectadas eran las posteriores.

El compartimento fémoro-patelar está frecuentemente afectado por la artrosis [299] y, por tanto, merece una valoración radiográfica diferente. Spector et al. [419], desarrollaron un sistema de valoración del compartimento fémoro-patelar, sobre una proyección lateral en flexión. Posteriormente, la proyección tangencial “en sol naciente” resultó ser el método preferido para valorar la reproducibilidad de las mediciones de este compartimento y su asociación con los cambios radiográficos y la presencia de síntomas [87]. Un segundo atlas revisado [299] incluyó estas proyecciones radiográficas. El atlas radiográfico más reciente, editado por Altman et al. [8], considerado como el atlas de referencia para la artrosis, ha mostrado tener una buena reproducibilidad intra e interobservador en estudios clínicos [38][39][255], valorando las características individuales, incluyendo la proyección tangencial del compartimento patelo-femoral. Sin embargo, estos atlas plantean problemas teórico-prácticos con los atlas fotográficos. En el atlas OARSI los grados ordinales para valorar la disminución del espacio articular y el tamaño de los osteofitos; existen osteofitos con formas anormales en múltiples radiografías de rodilla, no hay radiografías que valoren la tróclea femoral lateral o medial en la proyección tangencial [38] y hay diferencias en magnificación e intensidad, lo cual dificulta las comparaciones entre algunas fotografías. Por otro lado, la concurrencia de varias características (disminución del espacio, osteofitos, esclerosis, etc.) en la misma radiografía puede distraer al observador y llevar a un sesgo en el momento de contrastar la radiografía y la imagen del atlas. Además, como las fotografías del atlas se extienden por diversas páginas resulta engorroso de utilizar y debido al coste de la reproducción radiográfica es caro.

La distorsión morfológica y la magnificación asociadas a la radiología convencional dificultan mediciones y hace que la posición del paciente sea un aspecto crítico para la realización de estudios multicéntricos. Incluso cuando la técnica es correcta las mediciones cuantitativas del espacio articular están limitadas al compartimento fémoro - tibial medial siendo imposible distinguir en éste la afectación del cartílago articular del fémur o de la tibia. Por otra parte, se ha sugerido que la subluxación del menisco puede contribuir a la disminución del espacio articular [152] e, independientemente del estado del cartílago y la disminución del espacio articular de un compartimento puede hacer que el otro compartimento aumente, dificultando la interpretación apropiada.

Las secuencias de supresión de grasa (SPGR) producen una señal alta del cartílago y una señal baja del líquido sinovial, siendo válida para el análisis morfológico cuantitativo del cartílago [117][167]. Las mediciones semicuantitativas del volumen, grosor y superficie del cartílago evaluado en varias secuencias demuestran que existe una excelente correlación inter e intraobservador. Esto hace que la RM sea una método de valoración del estado articular muy atractivo para estudios longitudinales con un seguimiento de pacientes en el tiempo [117]. Utilizar equipos de calidad, con 3T, hace estas mediciones todavía más exactas. La exactitud de errores en un equipo de 1,5T son entre el 11% y el 17% y del 3% al 7% en una máquina de 3T.

Hay bastantes sistemas de valoración de las lesiones y degeneración articular que se fijan en el tamaño y localización de las lesiones, las alteraciones del hueso subcondral, cartílago, hueso y menisco [29]. El KOSS (Knee Osteoarthritis Scoring System) tiene una reproducibilidad muy buena (correlación interclase (ICC) 0,77) pero presenta una reproducibilidad para el cartílago y tejido subcondral bajas, con un ICC de 0,64 y 0,63 respectivamente [243]. El acuerdo interobservador para el Whole Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) es bueno, con un ICC de la pérdida de cartílago mayor de 0,90 [355]. Estos sistemas de valoración son aceptables pero tienen el inconveniente de que evaluar un solo caso requiere unos 45 minutos.

La escala MOCART [290] incluye nueve variables: el grado de relleno del defecto, la integración de los bordes, la descripción de la superficie, la descripción de la estructura, la intensidad de la señal, el estado de la lamina subcondral, el estado del hueso subcondral, la apariencia de las adhesiones y la presencia de sinovitis. Algunas de las partes del MOCART se han validado con técnicas de reparación como las microfracturas [166] y el trasplante de condrocitos (ACI) [260]. El MOCART solo tiene dos apartados para evaluar el hueso. Además, en el apartado 6, evalúa el hueso subcondral por debajo del tejido de reparación y como han señalado algunos autores [81][423] es demasiado ambiguo cuando se utilizan algunas técnicas de reparación. De hecho, Tetta et al. [423], eliminan este parámetro cuando utilizan el MOCART en injertos osteocondrales. En el apartado 7, el MOCART incluye el hueso subcondral y combina conjuntamente la evaluación para el edema de médula ósea y los quistes; mientras que otras escalas lo separan.

El sistema de valoración introducido por Marlovits et al. [290], el MOCART, tiene una fiabilidad interobservador buena (ICC >0,80) y mantiene una correlación signi-

ficativa con las subescalas del Knee Injury y del KOOS aunque el estudio se efectuó en un número pequeño de pacientes.

La degeneración del cartílago conlleva una degradación de la matriz de colágeno y una mayor movilidad de los protones del agua que puede ser detectado con una RM en secuencias T2 con tiempo de relajación inversa. Esta movilidad protónica refleja la arquitectura del colágeno y la densidad del cartílago articular [140].

Una técnica de RM para determinar la cantidad de proteoglicanos (PG) es el dGEMRIC que se basa en la carga negativa de la relación de la carga con los PG [173]. La administración intravenosa del ácido dietil-enetramine-penta-acético (Gd-DTPA^{2-}) se distribuye a altas concentraciones en el cartílago donde la cantidad de PG es pequeña y viceversa. Esto permite efectuar un mapa de la distribución de PG en el cartílago. Esta técnica tiene una buena reproducibilidad y buenas correlaciones (0,95 – 0,96) con el contenido de PG in vitro [25][318][468]. Se ha encontrado una disminución de la señal en el dGEMRIC tras la rotura del ligamento cruzado posterior, comparado con las imágenes de antes del accidente [472], también entre el contenido de PG en el líquido sinovial y la señal T1GD en la fase aguda después de la rotura del ligamento cruzado anterior [427].

Otra técnica es la T1 ρ , que produce un mapa cuantitativo de la distribución de PG en el cartílago articular basada en la interacción de los PG en el agua y su contenido y, también, el sodio MRI ($^{23}\text{NaMRI}$) para ver la pérdida de PG del cartílago articular aunque solo se puede aplicar en equipos con más de 3T [43][403].

Se han desarrollado varias escalas semi-cuantitativas para la valoración del cartílago articular por RM. La mayoría de estas escalas gradúan la gravedad del adelgazamiento del cartílago articular, de 0 a 3 ó 4, basándose en la evaluación subjetiva de uno o más radiólogos experimentados. Se ha evidenciado una alta sensibilidad y especificidad para la detección de lesiones condrales en rodillas de cadáver e in vivo comprobado por artroscopia con secuencias de supresión grasa ponderadas en T1 FSPGR (SPRG= spoiled gradient recalled acquisition at steady state) [115][373][374]. Se obtuvieron resultados similares con secuencias de supresión grasa ponderadas en T2 FSE [52][229] que requieren menor tiempo y secuencias DEFT con supresión grasa (fat-suppressed driven equilibrium Fourier transform imaging) [471]. Bredella et al. [48], obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad de 61% / 99%, 59% / 99%, y

40% / 100% para la detección de lesiones condrales en los planos coronal, axial y sagital respectivamente, 93% y 99% combinando los planos axiales y coronales y 94% y 99% cuando se realizaban combinaciones de imágenes en los tres planos. En este estudio, la precisión fue mayor para las lesiones condrales graves y menor en lesiones condrales menores, particularmente para las alteraciones de intensidad de señal. Recientemente, Masi et al. [296], utilizaron un modelo porcino con lesiones condrales generadas de forma artificial para comparar la precisión de la descripción de las lesiones con secuencias de peso intermedio FSE y secuencias de eco de gradiente con eliminación de eco residual (spoiled echo) realizadas a 1,5T y 3T. La mayor tasa de detección de lesiones fue obtenida con secuencias de peso intermedio FSE (90% frente al 62% a 1,5T) mientras que la mayor precisión para la graduación de lesiones fue obtenida con secuencias FSPGR (SPRG) en 3T (83% frente al 70% a 1,5T). Los análisis de características del receptor operativo en este mismo modelo confirmaron la mejoría en la interpretación del diagnóstico de lesiones condrales con secuencias a 3T (espesor de corte ≤ 2 mm y resolución de plano $\leq 0,39$ mm), pero solo cuando se utilizaron los protocolos de alta resolución de imagen [265].

Peterfy et al. [355], describieron un sistema de clasificación en el que las lesiones condrales se gradúan de acuerdo a su profundidad y extensión en la superficie articular utilizando una escala de 8 puntos. Esta escala forma parte de un sistema de clasificación más complejo (Whole-Organ MRI Scoring) en el cual se analizaron diferentes características de las estructuras que forman la articulación de la rodilla [357][355]. Las lesiones condrales son sistemáticamente graduadas en 15 regiones diferentes de la rodilla. A pesar de la complejidad de este sistema de clasificación la correlación interobservador (coeficiente de correlación intraclase, CCI) con dos observadores entrenados fue alta ($>0,98$ en alteraciones del cartílago articular y $>0,80$ para la mayoría de características excepto para el desgaste óseo y la sinovitis). Este sistema ha sido recientemente aplicado a imágenes obtenidas con un sistema de RM específico de extremidad con 1T [381].

Las dos escalas de valoración más utilizadas para el estudio de la artrosis de rodilla son: la Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) [128] y la Boston Leeds Osteoarthritis Knee Score (BLOKS) [199]. La escala WORMS fue desarrollada a partir de la capacidad de la RM para proporcionar medidas de todas las estructuras relevantes de la rodilla. En esta escala destacan la presencia de parámetros no-unidimensionales, es decir, aquellos que aceptan más de una opción, el grosor del

cartílago, la profundidad y la intensidad de señal como un único resultado; dificultades con la medición de algunos parámetros, especialmente en pacientes con artrosis precoz donde solo se pueden utilizar los extremos de las escalas y preocupación por la capacidad de respuesta [95][197]. Fruto de estas limitaciones surgió la escala BLOKS [199]. Ambas escalas han sido ampliamente utilizadas, aunque no se han hecho muchas comparaciones entre ellas [199]. Una de las comparaciones se realizó utilizando datos de la OAI [435] con dos observadores con amplia experiencia, utilizando secuencias bien establecidas disponibles en la OAI. Los pacientes de la OAI presentaban un grado de artrosis con disminución del espacio articular (avanzada), por lo que los resultados no se pudieron aplicar a situaciones de artrosis precoz ni tampoco grave. La conclusión fue que ambas escalas presentan un alto índice de fiabilidad presentando pocas diferencias entre ellas. La disminución del espacio articular valorado mediante radiología convencional no es un estándar para comparar con las mediciones de RM [199], por lo que hubiera sido más apropiado utilizar la medición cuantitativa de la morfometría del CA. La falta de rango de medición para algunos parámetros significa que no había rodillas con lesiones en la médula ósea (LMO) para evaluar la amplitud de cada escala. Es importante tener en cuenta que ambos sistemas de puntuación también evalúan otros parámetros que no están incluidos en estos análisis como la sinovitis, la presencia de osteofitos, cuerpos libres, quistes, bursitis, etc. Por tanto, dependiendo de la intención a estudio el investigador tendría que elegir entre un amalgama complejo de parámetros de ambos sistemas de puntuación.

Las escalas WORMS y BLOKS presentan limitaciones y si tuviéramos que revisar toda la literatura existente en escalas de valoración semicuantitativa de la RM el investigador tendría que elegir entre una serie compleja de medidas de estas dos escalas tan diferentes. Por ejemplo, el método de evaluación del menisco con la escala WORMS mezcla muchos conceptos y el método de BLOKS para valorar las lesiones de la médula ósea resulta incómodo, complejo y en ocasiones redundante. Igualmente, ambos instrumentos han sido utilizados en estudios posteriores sin llegar a publicar su descripción, por lo que ha hecho difícil generar comparaciones de las descripciones originales con posteriores estudios publicados.

La valoración semicuantitativa por RM continúa proporcionando pistas importantes sobre la etiopatogenia del fracaso articular así como las relaciones entre función y estructura. En un intento de hacer evolucionar estas escalas semicuantitativas, en base a sus limitaciones, integrando la opinión de expertos y teniendo en cuenta todos

los instrumentos de medición y los resultados publicados se ha desarrollado la escala para RM, MRI Arthrosis Knee Score (MOAKS) [198]. El sistema MOAKS se caracteriza por su refinamiento en la valoración de las lesiones de la médula ósea subcondral (delimitación regional y puntuando en todas las regiones), el cartílago (evaluación subregional) y los elementos de la morfología meniscal. Además omite áreas redundantes como el segundo método de puntuación del cartílago de la escala BLOCKS y evalúa el cartílago en regiones definidas por una sola imagen. Sin embargo, las escalas de valoración por RM de la artrosis de rodilla en pacientes humanos resultan difíciles de aplicar a modelos animales y no se han descrito escalas de valoración de la degeneración articular por RM en ovejas.

La RM puede mostrar la lesión articular y la lesión de hueso subcondral y, más recientemente, se ha comenzado a determinar la relación entre los estudios de RM y los cambios en la estructura articular del cartílago, de su composición e incluso de las propiedades mecánicas. Algunos marcadores del líquido sinovial pueden demostrar la respuesta biológica de la articulación a la lesión [70][431] aunque no se conocen biomarcadores para determinar y clasificar el desarrollo y la progresión de una artrosis postraumática o la eficacia del tratamiento quirúrgico o farmacéutico [78][269][445].

La artroscopia permite una visualización directa de la situación real de una articulación aunque la descripción del aspecto macroscópico no deja de tener un valor altamente subjetivo en muchos casos. Para evitarlo se han dado a conocer diferentes escalas de valoración como la SFA (Société Française de Arthroscopie) [116] o la de Outerbridge [348] (Tabla C Anexo II) basadas en el tamaño, grado, localización del daño del cartílago. Estos sistemas, sin embargo, tienen una buena reproducibilidad interobservador (0,52 – 0,62) e intraobservador (0,66 – 0,80) pero tienden a presentar una mayor concordancia (81% acuerdo intraobservador) en lesiones más graves que en las de grado medio o bajo (65% acuerdo intraobservador) [50][75]. Una alternativa a los sistemas de valoración macroscópica son el ICRS y el Oswestry Arthroscopy Score (OAS) [440] que presentan una alta fiabilidad inter- e intraobservador (0,62 y 0,56 para el ICRS y 0,73 y 0,65 para el OAS, respectivamente). También Smith et al. [414], estudiaron la validez y fiabilidad del International Cartilage Repair Society (ICRS) y el Oswestry Arthroscopy Score (OAS) de forma prospectiva, analizando vídeos de artroscopias. Las valoraciones se volvieron a realizar con un intervalo de dos meses demostrando ser ambas escalas fiables presentando una buena correlación entre evaluadores y entre observaciones. El alfa de Cronbach fue de 0,91 para el

ICRS y 0,82 para el OAS, demostrando una mayor consistencia interna la escala ICRS por tanto ambas escalas se pueden considerar adecuadas para valorar el estado del cartílago articular.

Sin embargo, se ha resaltado que la valoración artroscópica es irreal por la sobredimensión de las lesiones producidas por el artroscopio [111], aunque la visión artroscópica del área de cartílago lesionada se utiliza con frecuencia en los estudios clínicos [238][188][393]. Según Arøen et al. [14], la evaluación del tamaño de las lesiones del cartílago, con artroscopia, localizadas en el cóndilo femoral o en la rótula tienen un error del 24% comparadas con la artrotomía; encontrando que el error era inferior del 25% en el 63% de los casos. Por su parte, las técnicas convencionales de RM infravaloran el tamaño de la lesión del cartílago [14].

Con la idea de conocer en que medida la RM puede reemplazar a la artroscopia, Freimert et al. [142], diseñaron un estudio prospectivo con 195 pacientes a quienes realizaron una RM seguida de artroscopia. Los pacientes fueron divididos en 3 grupos. A los pacientes del grupo A (n= 86) se les realizó una RM estándar sin contraste, en diferentes proyecciones. Un subgrupo AK (n=21) fue examinado con secuencias especiales de cartílago en T1. El grupo B (n=88) fue examinado con un protocolo alternativo de RM empleando el gadolinio como medio de contraste. Se hallaron 156 lesiones condrales mediante artroscopia. En el grupo A la sensibilidad fue del 33%, la especificidad del 99%, y los valores predictivos positivo y negativo del 75% y 98% respectivamente. El grupo B alcanzó una sensibilidad del 53% y una especificidad del 98%. El valor predictivo positivo fue del 48% y el negativo del 98%. El grupo AK mostro una sensibilidad del 38% y una especificidad del 98%; los valores predictivos positivo y negativo alcanzaron porcentajes del 50% y 97% respectivamente. En conclusión, las técnicas de RM recomendadas en la literatura presente no son capaces de reemplazar a la artroscopia en el diagnóstico de la lesiones del cartílago articular de la articulación de la rodilla. En vistas de la alta especificidad (97%-99%) y el alto valor predictivo negativo (97%-98%), la RM es una prueba adecuada para la exclusión de las lesiones del cartílago. Por tanto, en situaciones en las que exista una RM negativa asociada a una lesión del cartílago articular debemos ser cautos al plantear el tratamiento quirúrgico de la misma. Dado que la RM no puede reemplazar a la artroscopia para el diagnóstico de lesiones condrales, la artroscopia sigue siendo el método de elección para la evaluación del daño del cartílago articular [142].

Efecto de la Lesión del LCA en Modelos Experimentales

El LCA es uno de los ligamentos que más frecuentemente se lesionan en la rodilla y junto con la lesión del ligamento colateral medial (LCM) alcanzan hasta el 95% de las lesiones ligamentosas de la rodilla [35][223]. La lesión del LCA produce un importante deterioro funcional articular en el deportista y se asocia con la inducción de cambios degenerativos en el cartílago articular [103][277]. Los pacientes con lesiones combinadas del LCA y el LCM generalmente presentan mayor afectación degenerativa que aquellos con lesiones ligamentosas aisladas [215][271][358][467]. Latimer et al. [257], describieron la presencia de lesión meniscal y daño articular en pacientes con lesiones de múltiples ligamentos. El resultado de la lesión ligamentosa no solo afecta al cartílago articular, sino que también implica toda la articulación incluyendo el hueso subcondral, los ligamentos, meniscos, la sinovial, y otros componentes articulares [223][134][183][334][421][425].

La carga moderada de la articulación de la rodilla mantiene la integridad del cartílago articular pero tanto el desuso como el sobreuso llevan a su alteración [11][90][153][194][382]. La movilización forzada provoca una degradación acelerada del cartílago articular tras la sección del LCA [11]. En otro estudio [461] en ratas sometidas a ejercicio después de una sección del LCA desarrollaron mayores lesiones cartilaginosas que el grupo control sin ejercicio, pero la lesión en el grupo control era tan grave como la del grupo experimental. El LCA contribuye en la dinámica articular para estabilizar la articulación de la rodilla y la rotura de este ligamento es crucial para provocar una artrosis [470] tanto en humanos, ratas [461], como en otras especies [420][428].

La sección aislada del LCA induce lesiones leves en el cartílago de la rodilla en la oveja [150][396]. Sin embargo, pocos estudios han descrito los efectos de la lesión ligamentosa en la rodilla de la oveja. Tapper et al. [421], estudiaron los cambios en la rodilla de la oveja a las veinte semanas de la sección del LCA y del ligamento colateral medial. Tras valorar el grosor del cartílago, la formación de osteofitos y la histología se observó degeneración articular, como la que se produce en la artrosis, con disrupción de la superficie del cartílago, clonación de condrocitos y cambios celulares. La rotura del LCA altera la función articular y predispone a cambios degenerativos [10][449]. Muchos estudios han examinado la mecánica de la rodilla después de la sección del LCA [109][133][202][237][451], sin embargo, se ha publicado muy poco sobre los efec-

tos ante la falta del ligamento [421][438]. Se han descrito numerosas complicaciones tras la rotura del LCA como son las lesiones de menisco, el daño condral y lesiones del ligamento colateral interno [72][331][320]. La falta de LCA provoca una tensión excesiva sobre los ligamentos colaterales de la rodilla [186][264] y la sección del LCA en rodillas de cadáveres aumentan la tensión del LLI cuando se aplican fuerzas anteriores sobre la tibia [275][392][405]. Con la RM se ha detectado un aumento de la longitud en el LLI y disminución en el LLE [438]. Según Atarod et al. [16], aunque la biomecánica de la rodilla de la oveja no es igual que la humana se puede, sin embargo, utilizar como modelo experimental por las similitudes que mantiene.

En un modelo experimental en ovejas, Atarod et al. [16], analizaron el efecto de la sección del LCA observando con el tiempo una disminución de las cargas soportadas por el LCP y el LLE durante la marcha, mientras que las cargas del LLI indican un aumento algo menor en el tiempo. Observaron un aumento de la traslación anterior o disminución de la traslación posterior tras la resección del LCA al igual que aumento de la traslación medial y rotación en valgo, como también se ha visto en estudios clínicos [91][109][133]. Sin embargo, encontraron una gran variabilidad entre los diferentes animales. En nuestro estudio la sección del LCA provocó la menor agresión sobre el cartílago y un aumento de aparición de osteofitos. Es un modelo de cambios suave, sin grandes alteraciones a las 8 semanas que podría ser reversible o al menos fácil de detener con una cirugía de estabilización de la rodilla. No creemos que un tratamiento farmacológico pudiera revertir este proceso si no se repara el LCA.

Efecto de la Meniscectomia en Modelos Experimentales

La escisión total o parcial del menisco de la rodilla, debido a los síntomas producidos por su fracaso como resultado de su degeneración o lesión mecánica, es todavía un procedimiento quirúrgico común. Sin embargo, esta intervención quirúrgica suele tener como consecuencia una degeneración prematura del cartílago articular y el establecimiento de un proceso de artrosis precoz [221][305][382]. Esta secuela postquirúrgica se considera resultado de la imposición de cargas focales y fuerzas de cizallamiento en el cartílago articular que resultan de la escisión del menisco, cuya función esta relacionada con la absorción de fuerzas y la estabilización articular de la rodilla [7][248][289][399][450]. La meniscectomia en ovejas adultas y otras especies reproduce los cambios patológicos en el cartílago articular y el hueso subcondral que han sido descritos en la artrosis precoz en humanos. Por esta razón, la meniscectomia

en animales se ha utilizado ampliamente como modelo de artrosis proporcionando nuevos puntos de vista en relación a los cambios temporales que ocurren en el cartílago articular y el hueso subcondral durante el desarrollo y progresión del proceso degenerativo [415].

La meniscectomía lateral en el modelo ovino ha evidenciado la presencia de hipertrofia y osteofitos adyacentes a la lesión focal del cartílago articular [267]. Tales cambios hipertróficos en el cartílago articular se considera que surgen como respuesta precoz de los condrocitos a cargas supra fisiológicas que a su vez se puede seguir por una fase degenerativa en la que se produce la destrucción de la matriz extracelular [73][190]. Diferentes estudios han demostrado como tras la meniscectomía se producen cambios significativos en la composición y metabolismo del cartílago articular en toda la superficie articular [12][68][74][123][137][313][159-161][206][266-268]. Appleyard et al. [12], confirmaron la presencia de lesiones focales en el cartílago articular en ambos compartimentos tras seis meses de la meniscectomía lateral en un modelo ovino de artrosis. Utilizando un modelo canino de meniscectomía medial, LeRoux et al. [262], llegaron a conclusiones biomecánicas y bioquímicas similares a los tres meses de la intervención.

La meniscectomía en ovejas adultas y otras especies reproduce los cambios patológicos en el cartílago articular y en el hueso subcondral descritos en la artrosis precoz en el hombre. Por esta razón, la meniscectomía en animales ha sido muy utilizada proporcionando nuevos puntos de vista en los cambios temporales que se producen en el cartílago y en el hueso subcondral durante el desarrollo y progresión del proceso degenerativo [415].

El conejo se ha utilizado frecuentemente como modelo experimental de artrosis [3][4] por su precio y manejabilidad, por su capacidad para soportar cirugías y los postoperatorios y tener un cartílago relativamente grueso en la rodilla, especialmente en el compartimento medial, que facilita los estudios histológicos y la evaluación bioquímica. Un estudio [308] ha encontrado que la resección de todo el menisco interno produce degeneración del cartílago que se desarrolla en un periodo de tiempo relativamente largo (13 – 40 semanas) lo que permite evaluar los efectos terapéuticos sobre la intervención. Efectuar la meniscectomía medial preservando el cartílago articular requiere una artrotomía completa o al menos dos artrotomías, anteromedial y postero-lateral. Este abordaje es, en muchas ocasiones, estresante para el animal. La agresión

quirúrgica del ligamento rotuliano y el aparato extensor de la rodilla del conejo que se realiza con el abordaje antero-medial puede afectar a la función los resultados cuando se compara con un grupo control no intervenido [15]. Por ello, siempre es deseable un abordaje poco agresivo. Esto hace que algunos autores propongan otros métodos para desencadenar un proceso degenerativo como provocar la inestabilidad quirúrgica del menisco interno por una artrotomía posterior [54]. Para conseguir la inestabilidad se libera el cuerno posterior del menisco completamente, conservando las estructuras más importantes. No podemos olvidar que el abordaje poplíteo (posterior) puede ser compartido con lesiones articulares como los defectos osteocondrales o sangrado [54][42][254] en la zona de carga del cóndilo femoral interno.

En el conejo por la posición de la rodilla y su rango de flexión (90°-160°) [272][287], la zona de carga más habitual están localizadas en la parte posterior, más que en la inferior. En nuestro estudio la resección del menisco, con o sin sección del LCA, produce las mayores alteraciones sobre el cartílago articular y el hueso subcondral. También la incisión longitudinal del menisco altera gravemente el menisco produciendo lesiones difíciles de revertir con tratamientos farmacológicos.

Valoración de las Lesiones del Cartílago en Modelos Experimentales

Valoración Macroscópica

Se han descrito algunos sistemas de valoración macroscópica y osteofitos en modelos de artrosis en ovejas [13][74][231][339]. Estos análisis han sido desarrollados en especímenes cadavéricos o sobre imágenes digitalizadas, aunque también se ha utilizado la tinción de tinta china para delimitar el cartílago fibrilado, fisurado o erosionado [239]. No se ha descrito ningún sistema de valoración macroscópica de la sinovial en ovejas o cabras pero se podría utilizar un sistema parecido al que se ha descrito en perros (Tabla D Anexo II).

McNulty et al. [306], recomiendan para valorar la degeneración articular la clasificación macroscópica de Collins [93] [264] dando puntuaciones al estado del cartílago, 0 = cartílago normal; 1 = cartílago con pequeñas fibrilaciones superficiales; 2 = fibrilación más profunda y 3 = sería una fibrilación generalizada o degeneración. Para valorar el menisco, el grado 0, sería un menisco intacto y de morfología normal; el grado 1 tendría una degeneración ligera, el grado 2 sería moderada y el grado 3 la degenera-

ción sería grave. Para la sinovial, el grado 0 muestra morfología normal, el grado 1 inflamación ligera; grado 2 inflamación moderada, y en el grado 3 la inflamación es grave, caracterizada por un engrosamiento de la sinovial y un aumento de la vascularización.

Valoración Microscópica

La histopatología del cartílago articular es el sistema de valoración predominante para cuantificar la artrosis y conocer la respuesta a un tratamiento en modelos animales. Uno de los primeros sistemas de graduación fue desarrollado, en 1949, por Collins y McElligot [93] (Figura 26), quienes propusieron un sistema macroscópico de clasificación de los cambios degenerativos en la rótula. Este método de clasificación fue desbancado posteriormente por la clasificación descrita por Mankin, en 1971, conocido como Histological - Histochemical Grading System (HHGS) [284-286] y, en 1986, por el método de O'Driscoll et al. [335-337], (Tabla E Anexo II) quienes completaron el HHGS y presentaron su sistema de valoración para el tejido cartilaginoso regenerado o reparado.

La gran variedad de sistemas de clasificación disponibles puede oscurecer la elección del sistema apropiado. Es más, no está claro el sistema que debe ser aplicado para responder a una cuestión específica, ni si ese sistema ha sido validado para esa aplicación. Esta cuestión resulta de vital importancia para comparar los resultados de diferentes investigadores o la validación de diferentes métodos [173].

La mayoría de los sistemas de valoración histopatológica utilizados se han basado en el descrito originariamente por Mankin et al. [284], objetivando la estructura del cartílago, la celularidad, la clonación de condrocitos, la tinción de proteoglicanos y la integridad de la línea calcificada ("tidemark") [284]. Se han descrito pequeñas variaciones del sistema original añadiendo o eliminando parámetros. Sin embargo, los sistemas de clasificación basados en la escala de Mankin son deficientes al evaluar solo el cartílago articular y no otras estructuras afectadas por la degeneración como son la sinovial, los meniscos, los ligamentos y el hueso. Surgen otras cuestiones en el análisis histológico, pues hay aspectos como que la gravedad de las lesiones del cartílago articular en el platillo tibial o en el cóndilo femoral son diferentes y el porcentaje de área afectada de las diferentes lesiones no se cuantifica en las escalas iniciales. Esto condujo al desarrollo de un sistema de valoración histopatológica [365] donde sola-

mente se evalúa el daño estructural del cartílago pero incluyendo la gravedad de las lesiones y del área afectada. Este sistema ha sido evaluado en cabras [101] y en ovejas tras meniscectomía o desestabilización del menisco [74]. No obstante, hasta que no se publiquen más estudios comparativos, seguiremos recomendando el uso de sistemas de clasificación tipo Mankin.

El hecho de que los cambios en el cartílago articular se producen, con frecuencia, de manera muy focal, especialmente en los modelos experimentales de artrosis, hace que los análisis histopatológicos compliquen el procesamiento de muestras, pues el número de las regiones articulares y las secciones de cada región que deberían ser evaluadas es muy elevado. Resulta problemático saber si los cortes para hacer comparaciones en un ensayo deberían ser realizados a través de la misma región anatómica o de la zona de mayor afectación del cartílago articular sin tener en cuenta su localización. La primera situación permite realizar mejores comparaciones dadas las diferencias topográficas preexistentes en las articulaciones normales [12][266-268][472-474]. Sin embargo, si un tratamiento experimental incide en la zona de mayor afectación del cartílago, estando ésta en una región anatómica diferente se producirán falsos positivos o negativos al realizar comparaciones de la misma región anatómica. Lo correcto será cortar bloques osteocondrales adicionales para hacer posible la comparación histopatológica de la zona de mayor afectación y, a su vez, también de la misma región topográfica de la articulación comparada. El número de regiones a evaluar debe ser determinado por los análisis adicionales simultáneos llevados a cabo. En ovejas [12] y en el hombre [472] se ha realizado el estudio histopatológico de hasta 12 regiones en una meseta tibial medial acompañado de otros análisis complementarios que permiten obtener diferencias entre regiones más precisas y evaluar mejor los efectos terapéuticos. Sin embargo, no se pueden recomendar en estudios rutinarios.

Un sistema de evaluación de las propiedades histológicas del cartílago articular debe ser exhaustivo y aplicado por investigadores con un conocimiento básico en histología. La variabilidad intra e interobservador debería ser baja y el sistema utilizado estar validado.

Las diferentes características a considerar en el desarrollo de un sistema de valoración ideal del cartílago articular debería ser “sencillo, útil, medible, extensible y comparable” [365]. Es más, cada sistema de valoración debería ser utilizado para el tipo de tejido designado; los sistemas de valoración de artrosis deberían centrarse en

las características degenerativas del tejido cartilaginoso, sano o enfermo; los sistemas para valorar la reparación del cartílago articular deberían centrarse en el grado en el que una lesión condral es reparada, y los sistemas de valoración de bioingeniería del cartílago articular deberían estudiar las cualidades del cartílago regenerado.

Antes de elegir el sistema más adecuado es preciso conocer algunas características básicas sobre el pre-tratamiento del tejido y las características de tinción requeridas. Para hacer posible la visualización del tejido cartilaginoso, la fijación con etanol-formaldehído es la mejor manera de mantener y fijar [344][345]. La tinción con Safranina-O permite visualizar los glucosaminoglicanos [386] y cuando se utiliza en combinación con una contratinción, como el “Fast - Green FCF / Hematoxilina”, también se puede visualizar el colágeno y los núcleos celulares. La tinción de azul alcian tiñe los glucosaminoglicanos pero los resultados son menos reproducibles. La combinación del azul alcian con el rojo picrosirio también visualiza las fibras de colágeno [207].

Los sistemas de valoración analizan un conjunto de características tisulares tras su tinción histológica. Cada característica debe ser evaluada independientemente de forma cuantitativa, o en combinación con otras características de forma categórica, lo cual puede influir en el diseño estadístico y en la evaluación del experimento. En una valoración cuantitativa, las características articulares consideradas más importantes, como son la estructura del tejido o el contenido en proteoglicanos, deben tener más peso en el resultado final [284]. El resultado final constituirá por tanto la suma de los parámetros individuales pero también puede ser la multiplicación de la suma de parámetros mencionados con “el área” [365], describiendo, en este caso, todo el área de tejido. Puntuaciones cuantitativas con un amplio rango numérico como la escala de O’Driscoll [335] aumenta la probabilidad de encontrar diferencias estadísticamente significativas entre grupos, siendo a la vez susceptibles de una mayor variabilidad interobservador.

Solo algunos de los sistemas de valoración existentes han sido validados. El hecho de usar un sistema de valoración validado aumenta la fiabilidad de las observaciones y mejora la comparación de estas observaciones con otros estudios. La validación de una clasificación se puede hacer mediante comparaciones con otras escalas macroscópicas previamente validadas [344], con escalas histológicas validadas [101], con sistemas histomorfométricos automatizados validados [336], o con parámetros

bioquímicos [175]. De estos métodos de validación, la correlación con el contenido en proteoglicanos normalmente se considera importante, ya que el contenido en proteoglicanos es una de las principales características de la integridad del cartílago sano, reparado o de ingeniería tisular.

A pesar del número de sistemas de valoración, solamente el HHGS para la valoración del cartílago y la escala de Berna [201] para valorar el cartílago generado mediante ingeniería tisular han sido validadas mediante análisis bioquímico [175][285]. Por otro lado, los sistemas de valoración histológicos se han utilizado como herramienta de validación y promoción de nuevas técnicas de análisis cualitativo del cartílago, como son las mediciones radiográficas [391], la RM [302][379] y las nuevas técnicas de imagen de cartílago en T1 y T2 [457].

Todos los sistemas de valoración histológica “semi-cuantitativos” dependen del observador y son por tanto subjetivos. La histomorfometría computerizada automática se ha descrito como una prueba objetiva, precisa y reproducible para el análisis de las características del cartílago. Sin embargo, el uso de la misma puede estar limitado por sus altos costes o por falta de experiencia técnica [337].

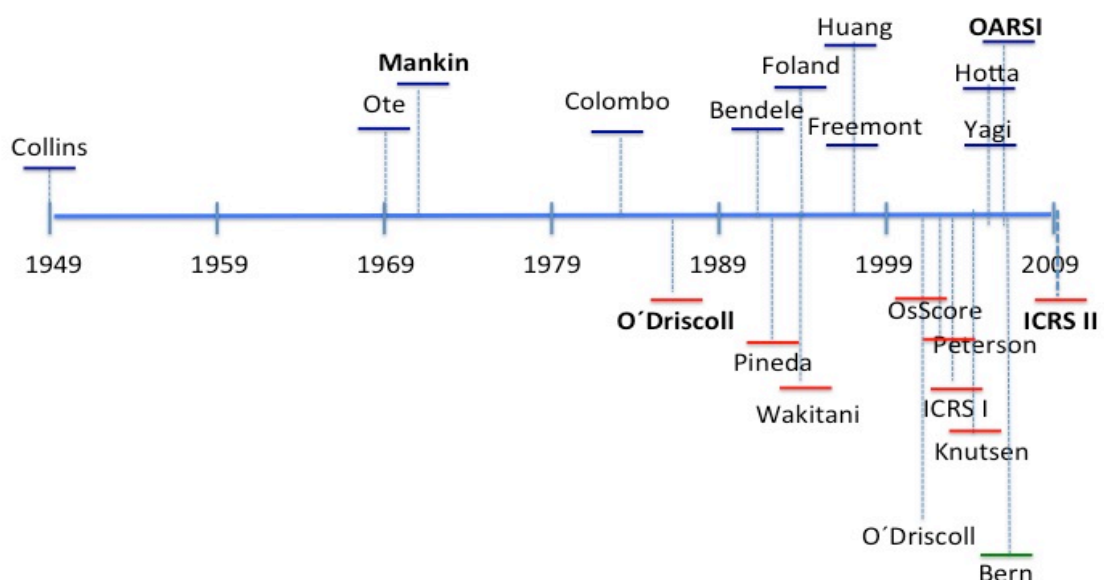


Figura 26. Desarrollo cronológico de los baremos histológicos. Los baremos para artrosis están marcados en azul, baremos de reparación de cartílago in vivo en rojo e in vitro de ingeniería tisular en verde.

Mientras se desarrollan nuevos sistemas de valoración [175][278][279][335] y en parte debido a las limitaciones de los sistemas iniciales [344][345], tanto el Osteoarthritis Research Society International (OARSI) como en International Cartilage Repair Society (ICRS) establecieron comités para desarrollar sistemas de valoración cualitativa y cuantitativa de las diferentes características del cartílago [281][365].

La escala de la Osteoarthritis Research Society International (OARSI) ha sido recomendada para la evaluación histológica [3][4][365] de la artrosis en distintos modelos animales. Del mismo modo, la evaluación macroscópica se debe realizar de forma rutinaria en los modelos experimentales cuando se analizan los defectos focales en el cartílago en conejos [47][225][276][335], perros [98][260], cabras [327], ovejas [319][361], o caballos [139] (Figura 27).

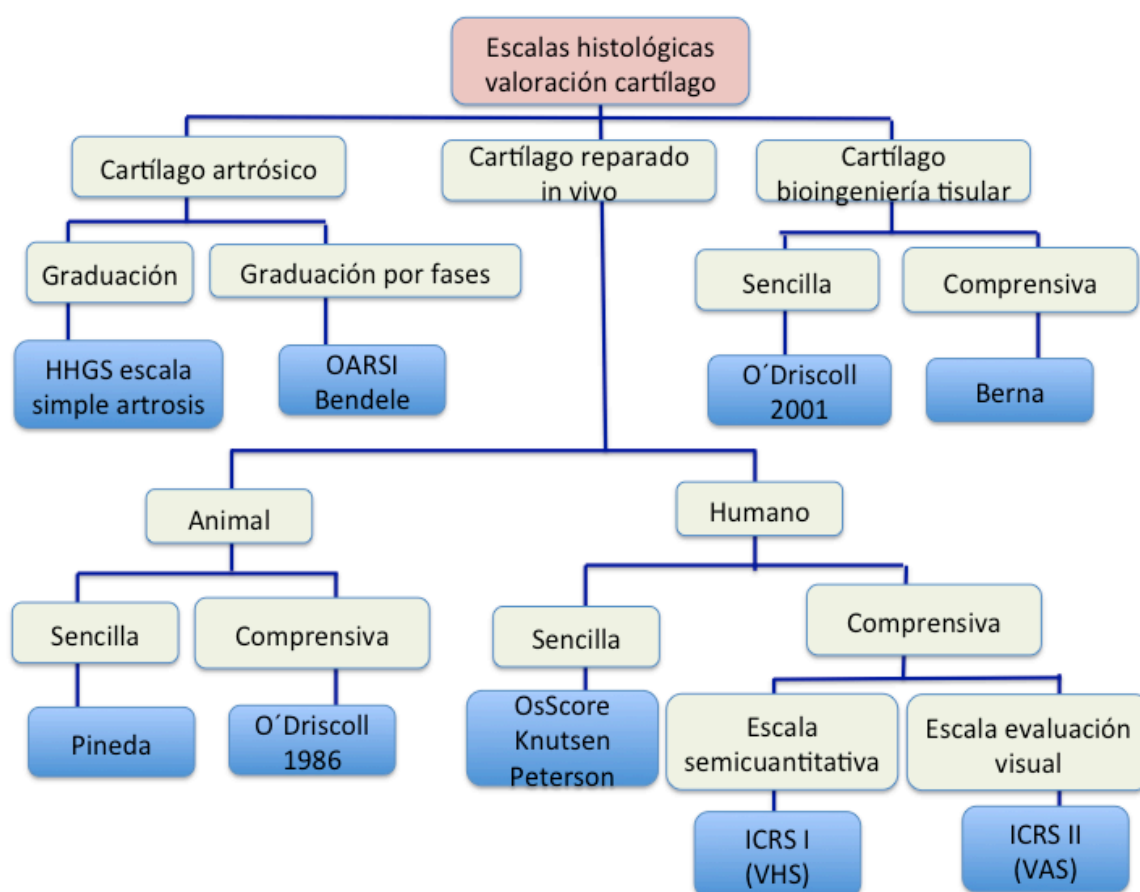


Figura 27. Elegir la escala adecuada siguiendo el diagrama de flujo. Las escalas validadas están en azul.

HHGS/Mankin Score

La HHGS o escala de Mankin [284] fue desarrollada para la valoración del cartílago articular humano aunque pronto fue también utilizada para graduar el cartílago animal. Existe mucha confusión con respecto al uso de la “escala de Mankin”, también conocida como “HHGS” o “escala de Mankin modificada”, habiéndose publicado distintas versiones de la misma. Mankin, en 1971, describió su escala como “HHGS” [285] mientras que el resto de escalas deben ser referidas como “escalas modificadas de Mankin” o “escalas modificadas HHGS” con comentarios específicos sobre los parámetros modificados.

La HHGS valora “la estructura del cartílago”, “la distribución celular”, “la tinción con O-Safranina” y “la integridad de la línea de calcificación”, como subitems independientes. La suma de las distintas puntuaciones proporciona un rango de 0 (normal) a 14 (artrosis grave). La HHGS fue correlacionada con una escala macroscópica [OSTERGAARD 1999], con parámetros bioquímicos y con la incorporación de $^{35}\text{SO}_4$ [284]. Aunque ha sido utilizada ampliamente, la escala HHGS ha recibido muchas críticas por su pobre reproducibilidad e inadecuada valoración de las lesiones del cartílago moderadas o de tipo medio [344][345]. Además, una puntuación baja puede resultar de caracterizar aspectos como el “pannus” o la irregularidad de la “superficie articular”, características que pueden estar también presentes en el cartílago articular sano no degenerado [344]. Este sistema no evalúa la extensión de la afectación de la superficie de cartílago articular [101][365]. Al presentar el cartílago articular regiones de diferente calidad, omitir el aspecto “extensión” puede sobre- o infravalorar la afectación global del tejido. Además, se ha visto que la HHGS presenta una importante variabilidad intra- e interobservador [101][344][345][441] (Tabla 12).

Tabla 12
Validación de la Escala HHGS

Autor–Año	Evaluación	Resultado	Comentario
Van der Sluijs et al. [441]	Variación intra- e interobservador	Adecuado	Criterios más estricto no lleva a mayor reproducibilidad
Ostergaard et al. [344]	Variación intra- e interobservador. Validación con Escala macroscópica de Collins	Inadecuado	HHGS no discrimina entre macroscópicamente normal y artrósico
Ostergaard et al. [345]	Variación intra- e interobservador. Validación con aspecto macroscópico	Moderado	HHGS es válido para distinguir entre normal y artrósico grave; no sirve para cambios macroscópicos ligeros y moderados
Custers et al. [101]	Variación intra- e interobservador. Comparación con sistema OARSI	Excelente	Reproducibilidad guarda relación con experiencia

Igualmente se ha visto que la intensidad de tinción con O-Safranina o azul de toluidina como parámetro valoración puede conducir a falsos errores ya que en cartílagos en los que la tinción no fue detectable, los anticuerpos monoclonales revelaron la presencia tanto de queratán sulfato como de condroitin sulfato [76]. También se ha cuestionado su sensibilidad para detectar cambios precoces ya que la variabilidad en el protocolo histológico puede afectar la intensidad de la tinción. Se ha sugerido que la evaluación de ciertos parámetros tales como la celularidad, la morfología celular y la línea de calcificación necesitan mayor consenso y mejores ilustraciones. Pauli et al. [352], observaron una gran variabilidad entre observadores en la valoración de la línea de calcificación y la celularidad. Además, el sistema de Mankin no incluye el grado de degeneración global del tejido y es, por tanto, más útil para lesiones localizadas. Por último, la detección de cambios se limita principalmente al cartílago mientras que los cambios óseos, meniscales o sinoviales no se consideran.

Escala OARSI (Osteoarthritis Cartilage Histopathology Assessment System)

El OARSI (Osteoarthritis Research Society International) como sistema de valoración histológica [158][365] se basa en una puntuación de 0 a 6 para medir la progresión en profundidad de la artrosis en el cartílago y el estadio de daño se define como

la extensión horizontal de cartílago que se valora de 0 a 4. La puntuación final es la combinación de los valores de grado y estadio (rango de 0 a 24). La fiabilidad de la escala se midió con el coeficiente kappa entre dos personas ($k = 0,833$) y un test-retest ($k = 0,864$) [470].

Con el objetivo de diseñar un método mas preciso de valoración el grupo OARSI desarrolló su propia escala [365] que evalúa la gravedad y la extensión de afectación de la superficie de cartílago articular afectado por la artrosis. A diferencia del HHGS y el resto de escalas del cartílago, el sistema OARSI enfatiza la extensión de la superficie articular con afectación del cartílago mediante el componente “estadio”, además del análisis del daño a distintos niveles del cartílago, como la “profundidad” y el “daño condral local”. Los componentes “Grado”, con rangos de 0 puntos indicativo de normalidad hasta seis puntos para gravedad, y “estadio”, de 0 puntos indicativo de “ausencia de visualización signos degenerativos” hasta cuatro puntos “más del 50% de superficie articular afecta”, pueden ser utilizados de manera independiente o combinada en una puntuación total de multiplicación. Se preveía que el sistema OARSI sería adecuado para la valoración de lesiones intermedias del cartílago y se esperaba que pudiera ser aplicado por observadores menos experimentados que el HGGS [365]. En un estudio comparando ambas escalas, se observó una reproducibilidad similar, aunque la fiabilidad del sistema OARSI fue mayor y, por tanto, la experiencia del observador parece no tener tanta importancia al aplicar esta escala [101]. Sin embargo, los autores determinaron que el componente “estadio” del sistema OARSI fue difícil de evaluar debido a la precisión requerida para estimar la superficie de afectación de las lesiones del cartílago [101]. La escala OARSI todavía no ha sido validado para su aplicación en cartílago articular humano, ni tampoco se ha correlacionado macroscópica o con parámetros bioquímicos. Desde nuestro punto de vista hay muchos casos que no se adaptan exactamente a uno de los grados y combinan aspectos de grados diferentes.

La escala OARSI define el componente “grado” como un índice de la gravedad del proceso degenerativo y puede ser un buen indicador de progresión de la enfermedad. El grado 1 del sistema OARSI se considera el umbral de la degeneración articular. El principal criterio que define el grado 1 es la presencia de una superficie articular intacta con otras características de degeneración articular tales como la irregularidad de la superficie o la presencia de fibrilación de la zona superficial. La dificultad en este caso es diferenciar el edema, la irregularidad de la superficie y la fibrilación moderada

de los artefactos que pueden aparecer en la superficie articular durante el procesamiento de las muestras.

El componente “Estadio”, resulta no ser una medición representativa en aquellos casos en que se analizan regiones específicas (como con una sección histológica de un animal más grande o una articulación humana). Pauli et al. [352], observaron menores coeficientes de correlación intra e interobservador con el componente estadio que con el componente grado y puntuación final. Los componentes individuales - grado y estadio - puede ser engañosos si se consideran de forma aislada, resultando más interesantes cuando se utilizan para calcular una puntuación global, con un rango de 0 a 24. Sin embargo, el estadio presenta más dificultad para la concordancia.

Los cambios óseos no se examinan en el sistema Mankin. En el sistema OARSI, las lesiones óseas subcondrales no están incluidas en la detección de cambios tempranos ya que OARSI gradúa únicamente de 1 a 4 los cambios del cartílago articular. Los grados 5 y 6 de OARSI integran los cambios óseos. Este orden implica una progresión desde el daño inicial del cartílago articular a la participación posterior del hueso que puede no ser aplicable a todos los casos de degeneración articular clínica. Los cambios óseos en los últimos estadios de la degeneración incluyen la esclerosis del hueso subcondral, las microfracturas con tejido de reparación, los quistes subcondrales, la reparación ósea y la presencia de osteofitos [128][157]. El parámetro del sistema OARSI para evaluar la deformidad del hueso depende de la ubicación dentro de la articulación que está representada por la sección y no es, por lo tanto, útil como una herramienta rutinaria. Como se ha comentado previamente el sistema OARSI no ha sido validado con parámetros macroscópicos o bioquímicos [284][344][390].

La escala OARSI fue diseñada para detectar las características histológicas antes de la aparición de la clínica de artrosis. Ninguno de los estudios de validación publicados incluye muestras que presenten cambios degenerativos precoces [101][353][388]. Según los datos publicados por Pauli et al. [352], existe un alto nivel de concordancia entre las dos escalas OARSI y HGGS en las puntuaciones globales y las puntuaciones de los compartimentos.

De acuerdo con la escala OARSI, la inflamación del cartílago es el primer cambio histológico detectable, que en su forma más extrema daría lugar a la hipertrofia del mismo. El edema en el cartílago articular se refleja como una condensación de fibras

de colágeno en la zona media superficial o superior o como una variación en la tinción de la matriz catiónica [365]. La cuestión es el valor real de este parámetro y si puede ser diferenciado de artefactos debidos al procesamiento de las muestras. El enfoque hacia la detección de los cambios precoces depende del tipo de estudio (Tabla F Anexo II).

Los cambios observados en las secciones con tinción de azul de toluidina y safranina-O no son indicadores cuantitativos de la depleción de proteoglicanos y pueden ser reversibles. Por otro lado, los defectos estructurales macroscópicos, tales como las fibrilaciones y erosiones parciales, son características relativamente tardías que están precedidas por cambios moleculares. En este sentido, la detección de cambios en la expresión génica mediante hibridación in situ o en la expresión de proteínas y la degradación de componentes de la matriz por inmunohistoquímica, sería más sensible y precisa. Por ejemplo, la inmunohistoquímica para el colágeno tipo II y agreganos permite identificar las diferencias en los grados histológicos de degeneración más precoces del cartílago articular [23]. Aunque los marcadores son útiles para detectar cambios precoces que preceden a los cambios histológicos, estos cambios también pueden ser reversibles y no reflejar la iniciación de la degeneración articular. Sin embargo, este enfoque es más apropiado para un estudio específico y no como una herramienta de evaluación de rutina.

Para evaluar la evaluación inmunohistoquímica, Mainil-Varlet et al. [280], proponen la siguiente escala basándose en la presencia de colágeno tipo 1 y tipo 2 (Tabla G Anexo II).

El sistema HSDS (Histologic Structural Damage Score) [182] fue descrito para objetivar los daños agudos mecánicos en el cartílago y cuantificar los daños estructurales en el impacto sobre el cartílago tanto por agrietamiento de la superficie como por aplastamiento. El baremo de grietas es independiente y se suma a un baremo de aplastamiento para obtener una escala de daño global. Las grietas se definen como discretas fisuras que se originan en la superficie articular y atraviesan el cartílago con una tinción de safranina-O y una organización celular similar al del cartílago no impactado. Un aplastamiento se considera como una depresión producida por un impacto o una falta de cartílago con una nueva organización celular y una tinción de safranina-O diferente.

A la superficie articular agrietada se le dan valores de 0, 1 ó 2. Cuando no hay alteraciones visibles la puntuación es 0; pequeñas grietas localizadas en la zona superficial o de transición del cartílago se puntúan como 1 y cuando las grietas demuestran una mayor tortuosidad y penetran en las capas radial o profunda del cartílago se puntúan con 2.

Por su parte, los aplastamientos o hundimientos se valoran como 0 (no hay depresión), 3, 4 ó 5. El cartílago aplastado tiene más importancia que el agrietado y por eso se le asignan valores mayores. El cartílago aplastado tiene invariablemente una mayor superficie que el cartílago fisurado, aunque sea un cartílago con múltiples grietas. Además, el cartílago aplastado demuestra una separación física del cartílago del hueso subcondral, un hecho que nunca aparece cuando hay grietas. Especímenes con depresiones que afectan menos del 50% del grosor del cartílago se asignan con una puntuación de 3; cuando el rango es superior al 50% del grosor llegando hasta el grosor completo, incluyendo daños en la capa más profunda o cuando hay una separación de la interfaz hueso - cartílago, se le asignan 4 puntos. Finalmente, un aplastamiento obliterado, con pérdida de la arquitectura y grave fragmentación se le puntúa con 5.

Al sumar los dos aspectos, grietas e impacto, la puntuación total se establece entre 0 y 7 puntos. En principio es posible obtener una puntuación elevada en el baremo de aplastamientos sin que existan fisuras; sin embargo, habitualmente correlacionan ambos aspectos [182]. Esta escala se considera óptima para los estudios de daño articular por impactos, aspecto para lo que no están preparadas otras escalas como el HHGS, OARSI, Mankin o ICRS ya que no distinguen entre aplastamiento o grietas. El HSDS es real y reproducible con un alto valor de ICC, coeficiente de correlación interclase, y un alto índice kappa, lo que demuestra una buena correlación inter e intraobservador [182].

Además se han descrito otras escalas sencillas para la valoración de la degeneración articular [33][94][136][194][347][391][469]. En esencia, todos estos sistemas evalúan parámetros similares a los del sistema HHGS, pero o bien estos parámetros se gradúan de una manera diferente, o se aplica una puntuación global en lugar de puntuaciones independientes. La mayoría de estos sistemas únicamente han sido utilizados en el estudio de presentación de la escala sin haber sido validados (Tabla 13).

La técnica de referencia para valorar las fibras de colágeno es la microscopia con luz polarizada utilizando cualquiera de las escalas disponibles [82][83][278][279][379]. Se ha utilizado mucho por su sencillez pues solo precisa de preparaciones incluidas en parafina y un microscopio con un filtro de luz polarizada. Es muy utilizada por su sencillez y bajo coste.

También se ha estudiado la polarización con otras técnicas como la tomografía óptica de coherencia, la RM y la microscopia multifotón. El mapeo en T2 es un método para medir la orientación del colágeno [387]. Ross et al. [387], compararon tres técnicas para valorar la orientación de las fibras de colágeno (T2 mapping, microscopia multifotónica y microscopia de luz polarizada). Vieron que había diferencias claras en la orientación de las fibras de colágeno en el tejido normal y reparado. Esto sugiere que cualquiera de las tres técnicas puede utilizarse para cuantificar y comparar la orientación de las fibras de colágeno. En histología las técnicas de luz polarizada son de referencia y las únicas que pueden valorar la orientación de las fibras en el cartílago. La relación entre T2-mapping y luz polarizada es buena mientras que la correlación entre la luz polarizada y la microscopia multifotónica fue moderada.

Tabla 13
Modificación Escala HHGS y otras escalas

Autores, año	Comentarios
Otte et al. 1969	Conocida como Fassbender, modificada por Saal et al. Solo grados en la superficie cartílago. Alta correlación con estructura de superficie del HHGS
Colombo et al. [94]	Muy parecida al HHGS, modificada por Hotta et al.,
Bendele y Hulman [33]; Freemont et al. [141]; Huang et al. [194]	Estas escalas aplican directamente una puntuación de gravedad sobre el cartílago. Bendele incluye estadios. Huang divide en cuatro grados.
Foland et al. [136]	Mide fibrilación, necrosis condrocitos, formación condronas y pérdida focal de células. Modificada por Frisbie et al.,
Yagi et al. [469]	Escalas de depleción de la matriz y cuantificación celular

Se recomienda la escala modificada de O'Driscoll [336] [312] efectuando tinciones con HE, safranina O y toluidina azul. Lo consideran uno de los pocos baremos semicuantitativos descritos para evaluar lesiones condrales en animales de experimentación, donde se valora la “integración del tejido de reparación con el tejido nativo adyacente” [390]. Con esta escala se mide el relleno del defecto, la morfología del tejido, la tinción de la matriz (safranina O), la reconstrucción de la unión ósea y condral, la “*tidemark*”, la integración basal y lateral, los *clusters* de condrocitos, la regularidad de la superficie y la integridad estructural. Esto no sucede con la escala ICRS II, más reciente, que está diseñada para evaluar la calidad del tejido de reparación en biopsias humanas [280].

Chan et al. [80], en un estudio en cabras, tras colocar injertos osteocondrales autólogos para valorarlos a los 6 y 12 meses, realizaron un test de indentación mecánica, micro-CT (micro tomografía) y el análisis histológico, en diferentes zonas de la superficie articular, basado en tinciones de hematoxilina-eosina, safranina – O, e inmunohistoquímica (col1, col2). Las preparaciones teñidas con safranina-O fueron evaluadas de forma diferente por dos investigadores, utilizando la escala de O'Driscoll, con un valor máximo de 28 puntos, incluyendo una categoría para la “degeneración del injerto” (con una puntuación máxima de 4) y también el baremo ICRS I, donde cada categoría tenía una puntuación máxima de 3 (Tabla H Anexo II).

Por su parte, Igarashi et al. [208], efectuaron un estudio en 8 conejos para determinar el efecto de la administración intraarticular de alginato. Para ello tuvieron que efectuar un modelo experimental de artrosis bilateral seccionando los ligamentos cruzados anteriores. Realizaron tras el cierre de la herida una maniobra de cajón anterior y un Lachman para confirmar la rotura. Los animales se sacrificaron a las 9 semanas. El análisis histológico del cartílago del fémur distal y de la superficie proximal de la tibia fueron teñidas con safranina – O, empleando la escala de Kikuchi et al. [236], para su valoración (Tabla I Anexo II). Todas las secciones fueron estudiadas aleatoriamente por un solo investigador sin saber al grupo al que pertenecían.

La mayoría de las escalas de valoración están basadas en la de Mankin y O'Driscoll (Tabla 14) prueba de que son insuficientes y cada estudio es diferente por lo que necesitan ser completadas.

Valoración del Estado Articular en Estudios Experimentales

Se han desarrollado métodos semi-cuantitativos y cuantitativos para valorar el estado del cartílago articular por RM en la degeneración articular. Las escalas semi-cuantitativas han mostrado un alto grado de correlación intra e interobservador, una adecuada sensibilidad y especificidad en relación con la artroscopia y la capacidad de detectar la progresión del daño del cartílago articular en periodos de observación razonables de 1- 2 años. La valoración cuantitativa del cartílago articular con la RM de alta resolución y secuencias gradiente echo de supresión grasa y el análisis con técnicas de imagen digital han facilitado la valoración de una serie de parámetros morfológicos que nos permiten realizar el diagnóstico, valorar el estado de la enfermedad y monitorizar su progresión. La RM cuantitativa presenta un alto grado de precisión (validez técnica) en relación a otros métodos y muestra un grado de exactitud suficiente (reproducibilidad) para su aplicación estudios de corte transversal y longitudinal en pacientes con degeneración articular. Existe actualmente cierta controversia sobre la resolución espacial que se requiere para detectar cambios en el cartílago articular de la rodilla con degeneración articular y sobre la orientación más adecuada de la sección para ilustrar la articulación fémoro - tibial en pacientes con articulaciones degeneradas.

Estudios longitudinales han mostrado como se producen cambios en el volumen del cartílago articular de en torno a un 4%-6% al año en la mayoría de los compartimentos de la rodilla con degeneración. La RM cuantitativa se encuentra en una situación en la que puede ser incorporada a estudios epidemiológicos de degeneración a gran escala y en ensayos clínicos de potencial respuesta al tratamiento con medicamentos modificadores de la artrosis. Las ventajas potenciales de la RM cuantitativa con respecto a otras técnicas es que permite una valoración directa y segura del cartílago articular y proporciona datos fiables de todos los compartimentos de la rodilla. Resultados recientes indican que los cambios longitudinales de la morfología del cartílago articular medidos con RM cuantitativa están más estrechamente correlacionados con los resultados clínicos (síntomas, tiempo hasta la artroplastia) que las mediciones de la disminución del espacio articular en la radiografías.

El uso de técnicas no invasivas para la detección, medición y análisis bioquímico de las lesiones del cartílago articular supone un gran atractivo desde el punto de vista clínico. El mapeo espacial preciso del grosor del cartílago articular podría permitir la cuantificación de regiones con adelgazamientos focales y su posterior seguimiento

para evaluar los efectos de los distintos tratamiento rehabilitadores. Sin embargo, la historia natural de la degeneración articular conlleva mucho más que simples defectos en el espesor articular. Uno de los primeros signos de degeneración es la fibrilación de la fibras de colágeno de la región articular más superficial. La superficie de la región más superficial supone, sin embargo, una docena de micras de envergadura siendo el mayor cambio detectable por la RM de unos cientos de micras (0,2-0,3 mm) [92][302]. Por tanto, los cambios de intensidad de señal del cartílago con las técnicas de RM, parecen estar en relación con las propiedades mecánicas del mismo. La combinación de la determinación del grosor del cartílago articular y la intensidad de señal podrían suponer una herramienta diagnóstica importante.

Una de las consideraciones clave durante el desarrollo del protocolo de RM de la rodilla desarrollado por Osteoarthritis Initiative (OAI) fue la de describir las características a identificar en el proceso degenerativo. Dado que la artrosis afecta a múltiples componentes articulares, y se piensa que progresa por diferentes via patogénicas, el protocolo de la OAI debía contemplar esta consideración. Este grupo de trabajo priorizó el análisis del cartílago, osteofitos, anomalías en la médula ósea, la depresión ósea y los quistes, la unión osteocondral, la integridad menisco, el tejido sinovial, el derrame articular y los ligamentos. Por lo tanto, es fundamental la creación y validación de escalas para valorar la degeneración en animales. Estas escalas permitirán evaluar en que medida responde el animal a las diferentes intervenciones terapéuticas modificadoras de la progresión de la artrosis.

El sistema Mankin ha sido validado pero no evalúa la extensión de la afectación del cartílago, a diferencia del sistema OARSI que no ha sido validado pero si tiene en cuenta la extensión de la afectación articular mediante sus diferentes componentes. Hasta ahora, el sistema de Mankin sigue siendo el sistema más utilizado, con modificaciones en diferentes estudios [246][390][424]. Como consecuencia de ello, resulta difícil realizar comparaciones de los estudios con modelos animales debido a los diversos sistemas de evaluación empleados [3][4]. Por otro lado, el sistema OARSI todavía no se ha universalizado en parte debido a la tendencia histórica hacia el sistema de Mankin y a que no ha sido validado.

Son tres los estudios que comparan los sistemas Mankin y OARSI. Los observadores de estos estudios tenían más experiencia con el sistema Mankin que con el OARSI [101][353][388]. En el estudio realizado en cabras, se obtuvieron secciones de

cartílago de cuatro animales que desarrollaron lesiones en el cartílago articular del cóndilo femoral tras la colocación de un implante de cromo-cobalto en la meseta tibial ipsilateral. Mientras que ambos sistemas resultaron igualmente reproducibles, el sistema OARSI fue más fiable. En el sistema OARSI la experiencia del observador parece menos importante, sin embargo el nivel del estadio resultó difícil determinar [101]. En el estudio de Pearson et al. [353], en diez especímenes humanos de rodilla con degeneración, ambos sistemas demostraron ser fiables, reproducibles, y con una variabilidad similar. Rout et al. [388], tras su estudio en dieciséis casos sometidos a artroplastia unicompartmental de rodilla, llegaron a la conclusión de que tanto el sistema Mankin modificado como el sistema OARSI resultan útiles para la graduación histológica, aunque el OARSI es más fácil y más rápido de usar. Para nosotros es un sistema tan válido como cualquiera de los otros disponibles que ofrece, de una manera rápida, una forma sencilla y bastante aproximada de la situación de la articulación. Su desconocimiento y las continuas referencias a los sistemas de Mankin y O'Driscoll en la literatura hace que no se utilice tanto.

Tabla 14

Modificaciones Recomendadas en la Literatura en las
Escalas de valoración histológica del cartílago

Año	Autores	Comentarios
1995 – 2008	[66][143-145][147] [279][327] [369][398] [418][442]	Modificación de las categorías de O'Driscoll; categorías nuevas o alteradas: "reconstrucción del hueso subcondral", "formación de la tidemark", "integración basal del injerto" y "signos de inflamación"
1997 – 2007	[77] [104] [170] [434]	Incluye evaluación del tratamiento del defecto condral focal utilizando una escala basada en el HHGS [MANKIN]. Como la escala de O'Driscoll, evalúa la integración de la reparación de cartílago. Se combina evaluación macro y microscópica
2001	[279]	Modificación escala O'Driscoll; "cluster de condrocitos" se considera como parte del proceso de reparación y no de degeneración
2008	[324]	Combinación de escala de O'Driscoll e ICRS I (Visual Histological Assessment Scale). Otras escalas combinan varias escalas iniciales.

Si bien estos estudios proporcionan una información útil sobre la utilidad relativa de los dos sistemas en la evaluación de la degradación del cartílago grave o terminal, queda todavía por determinar la validez de los mismos en una amplia gama de gravedad. Para hacer frente a esta cuestión, Pauli et al. [352], analizaron una colección de articulaciones de rodilla humana con todo el espectro de degeneración. En cada rodilla y en cada compartimento se realizó un muestreo topográfico estándar. Con el fin de minimizar la variabilidad debida a la técnica realizaron preparaciones histológicas con tinciones estandarizadas.

La cuestión más interesante y buscada por los investigadores es determinar en la graduación del cartílago articular la gravedad de la lesión. Obtener esta información con ambos sistemas resulta complejo, variable y necesita tiempo. De hecho, la mayoría de publicaciones que evalúan todos los parámetros en los dos sistemas ni siquiera los discuten en detalle sino que únicamente interpretan la gravedad de la lesión global.

Los sistemas de valoración histológicos, como Mankin y OARSI, son observador-dependiente y por tanto resultan subjetivos. La histomorfometría computarizada automatizada podría permitir un análisis más objetivo, preciso y reproducible del cartílago [336][337]. Entre los cuatro sub-componentes de la escala Mankin, las correlaciones del programa de ordenador con las puntuaciones de los observadores fueron mejores para los defectos de superficie y la reducción de proteoglicanos, y menos favorables para la celularidad y la invasión de la línea de calcificación. Estos resultados son similares a los presentados por Pauli et al. [352], lo que subraya las ventajas de un sistema basado en menos parámetros y más fiables. Con el fin de evaluar rápidamente la gravedad de la degradación del cartílago, proponemos el desarrollo de un sistema simplificado para anotar el volumen de la lesión, midiendo la profundidad y anchura de la misma tal como propuso Glasson [164] en un estudio en ratones con degeneración articular.

Un sistema universal de valoración histológica de la degeneración articular en la rodilla de la oveja permitiría comparar el grado de afectación articular de los diferentes modelos degenerativos, ya sea espontánea o inducida por métodos enzimáticos, químicos o quirúrgicos. Un sistema universal también proporcionaría una evaluación más objetiva del proceso de aceleración o mejoría del proceso degenerativo con tratamientos específicos. Esto daría prioridad a aquellos agentes terapéuticos cuyos objetivos fueran más críticos en la progresión de la degeneración de la rodilla de la oveja.

Chang et al. [81], crearon una escala para la valoración de injertos osteocondrales (OCAMRISS, OsteoChondral Allograft MRI Scoring System) que incluye 9 factores primarios propios del injerto, 5 corresponden al cartílago, 4 al hueso y 4 factores secundarios que corresponden a la articulación (Tabla 15). En la valoración de la escala OCAMRISS, Chang et al. [81], observaron una buena correlación interobservador, correlación con la histopatología y con micro-CT para todos los factores primarios y una correlación negativa significativa con las pruebas de indentación biomecánicas. Se sabe que los injertos osteocondrales frescos y refrigerados tienen mejor evolución que los congelados [137][256][300][309][349] y estas diferencias fueron también detectadas por el OCAMRISS (Tabla 16) (Tabla K Anexo II). Las escalas de valoración cuantitativas eliminan el efecto de variabilidad del observador. La mayoría de las escalas son modificaciones a partir de unas iniciales y cada una de ellas sirve para medir aspectos o técnicas concretas. En la tabla 17 se presentan las características que miden cada una de las escalas más utilizadas en la literatura.

Los resultados de la valoración por RM mediante la aplicación de la escala sMOAKS indican que el grupo en el que se seccionó el LCA fue el que presentó un mayor grado de degeneración articular. Sin embargo, en el estudio histológico observamos que el grupo en el que se produjo una resección meniscal fue el que presentó una mayor afectación del CA. Cuando analizamos la valoración del cartílago por RM, excluyendo el resto de estructuras articulares y la articulación fémoro-patelar, observamos una buena correlación con la valoración histológica. Por tanto, el mayor grado de degeneración articular observado mediante RM en el grupo con sección del LCA es a expensas de una mayor presencia de osteofitos en este grupo y la escala sMOAKS presenta validez en la valoración del cartílago articular. Las escalas de valoración histopatológica de la artrosis descritas en la literatura médica no permiten evaluar todos los parámetros involucrados en el proceso degenerativo siendo insuficientes para valorar el grado de afectación articular global.

Tabla 15
Comparación por grados entre escala MOCART y OCAMRISS

Escala MOCART	Escala OCAMRISS
Apartado 1: Grado de reparación de un defecto y relleno defecto	Apartado 2: Relleno de “cartílago” en el injerto
Apartado 2: Integración bordes	Apartado 3: Borde del cartílago integración injerto – receptor
Apartado 3: Superficie tejido reparación	Apartado 4: Congruencia superficie cartílago
Apartado 4: Estructura del tejido de reparación	<i>Combinación Apartado 1</i> (señal de cartílago en injerto) y Apartado 2 (“relleno” de cartílago del injerto)
Apartado 5: Intensidad de señal del tejido de reparación	Apartado 1: Señal de cartílago en injerto
Apartado 6: Lámina subcondral	Apartado 6: Congruencia placa hueso subcondral del injerto y de la unión injerto hueso
Apartado 7: Hueso subcondral	<i>Combinación Apartado 7</i> (intensidad de señal en hueso subcondral injerto), apartado 8 (integración ósea en la unión injerto – receptor) y Apartado 9 (presencia de cambios quísticos en injerto y unión hueso receptor – injerto)
Apartado 8: Presencia de adherencias	No
Apartado 9: Sinovitis	Apartado 12

Es evidente la necesidad de contar con un modelo protocolizado para obtener la degeneración articular en diferentes animales, con diferentes tiempos de evolución para adaptarlo al interés del estudio. Pero también son necesarios determinar las técnicas no invasivas más adecuadas para su valoración, RM, biomarcadores, etc., y dejar únicamente para casos y trabajos especiales la valoración microscópica que exige siempre terminar con la muestra en un momento determinado y que no es fácil de ejecutar ni tampoco de elegir la zona más adecuada para obtenerla.

En trabajos experimentales es necesaria una escala de valoración completa de todos los elementos articulares; la artrosis no es solo la alteración del tejido cartilaginoso, hay que tener en cuenta la extensión y profundidad de la lesión y, sobre todo, valores objetivos a la hora de tomar decisiones. A pesar de los intentos efectuados estamos muy lejos de conseguirlo.

Entre las limitaciones de este estudio está la muestra utilizada y el no contar con diferentes tiempos de evolución. Hubiera sido deseable contar con un grupo control para valorar el efecto aislado de la artrotomía o realizar la intervenciones por vía artroscópica. También ha sido una limitación escoger únicamente dos escalas histológicas.

Tabla 16
OCAMRISS [81]

RM: Hallazgo	Escala RM
1. Señal Cartílago del Injerto	0: Normal 1: Intensidad alterada (hipo- o hiperintensa, pero no líquido) 2: Líquido en todas las secuencias
2. “Relleno” de Cartílago en Injerto	0: 76% - 100% 1: 51% - 75% ó >100% 2: <50%
3. Integración Borde Cartílago. Unión injerto – cartílago	0: No discernible o unido 1: Discernible unido 2: Fisura >1 mm
4. Congruencia Superficie Cartílago del Injerto y de la Unión	0: Rubor (“flush”) 1: <50% fuera del cartílago huésped 2: >50% fuera del cartílago huésped
5. Integración cartílago calcificado del injerto	0: Intacto, delgado y suave 1: Alterado
6. Congruencia capa hueso Subcondral entre Injerto y Hueso Receptor	0: Intacto 1: Alterado por > 1 mm de grosor
7. Intensidad de Señal Médula ósea subcondral en relación hueso epífisis	0: Normal 1: Alterado, patrón de edema medular o hipointensidad en todas las secuencias
8. Integración ósea en unión injerto – receptor	0: Cruzan trabéculas 1: Separación evidente
9. Presencia de quistes en injerto y unión injerto – huésped	0: Ausente 1: Presente
10. Cartílago Contralateral	0: Normal 1: Alterado
11. Lesión Menisco	0: No 1: Si
12. Sinovitis	
13. Grasa y Cicatrices	

Tabla 17
Parámetros Considerados en Diferentes Escalas

Parámetros	1	2	3	4	5	6	7
Morfología celular							
Tinción de la matriz							
Regularidad superficie							
Integridad estructura							
Grosor / relleno defecto							
Unión osteocondral							
Adjacent bonding							
Basal integración							
Celularidad							
Clusters / distribución							
Degeneración cartílago adyacente							
Mineral							
Vasos							
Hueso subcondral							
Viabilidad celular							
Inflamación							
Calidad cartílago cilindro osteo- condral							

1. Escala de O'Driscoll; 2. Escala de Pineda; 3. Escala de Wakitani; 4. Escala HHGS;
5. Escala ICRS I (VHS); 6. Escala de Knutsen ; 7. Escala ICRS II (VAS)

CONCLUSIONS

1. ***“The new scale developed in this study has shown to be a Reliable Scale, with a high intra and interobserver Correlation Index, in order to semi-quantitatively evaluate the effect of the different osteoarthritic induction lesions in the ovine stifle through MRI”.***

“La nueva escala desarrollada en este trabajo (sMOAKS) es una escala fiable, con un alto índice de correlación intra e interobservador, para valorar mediante resonancia magnética (RM), la degeneración articular inducida en la rodilla de la oveja”.

2. ***“MRI assessment, through sMOAKS scale, allows to evaluate and quantify the involvement of different structures implicated in the degenerative process, showing that the anterior cruciate ligament transection group induced the highest degree of degeneration at the expense of an increased presence of Osteophytes”.***

“La valoración por RM, mediante la escala sMOAKS, permite cuantificar y valorar el grado de afectación de diferentes estructuras articulares involucradas en el proceso degenerativo articular, siendo el grupo en el que se seccionó el ligamento cruzado anterior el que presentó mayor grado de afectación a expensas de una mayor presencia de osteofitos”.

3. ***“The Histological Scales applied in this study (MANKIN and OARSI) show that the Articular Cartilage of the ACL transection Group was the less affected”.***

Las escalas histológicas aplicadas en este estudio (MANKIN y OARSI) muestran que el grupo en el que se seccionó el LCA es el que presenta una menor afectación del cartilago articular.

4. ***“The exclusive evaluation of the Femoro-Tibial Articular Cartilage with MRI-sMOAKS Scale shows a High Index of Correlation with the Histological Assessment (MANKIN and OARSI Scales)”.***

Cuando analizamos exclusivamente la afectación del cartilago femoral y tibial por RM, con la escala sMOAKS, observamos un alto índice de correlación con las valoraciones histológicas

BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta CA, Izal I, Ripalda P, Douglas-Price AL, Forriol F. Gene expression and proliferation analysis in young, aged, and osteoarthritic sheep chondrocytes effect of growth factor treatment. *J Orthop Res* 2006; 24: 2087-94.
2. Adams JG, McAlindon T, Dimasi M, Carey J, Eustace S. Contribution of meniscal extrusion and cartilage loss to joint space narrowing in osteoarthritis. *Clin Radiol* 1999; 54:502-6.
3. Aigner T. Osteoarthritis histopathology grading criteria - a never ending story? *Osteoarthritis Cartilage*. 2012; 20:469-70.
4. Aigner T, Cook JL, Gerwin N, Glasson SS, Lavery S, Little CB, et al. Histopathology atlas of animal model systems - overview of guiding principles. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(Suppl 3):2-6.
5. Aigner T, Soeder S, Haag J. IL-1 β and BMPs--interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration. *Eur Cell Mater* 2006; 12:49-56.
6. Alexander PG, McCarron JA, Levine MJ, Melvin GM, Murray PJ, Manner PA, et al. An in vivo lapine model for impact - induced injury and osteoarthritic degeneration of articular cartilage. *Cartilage* 2012; 3:323-33.
7. Allen CR, Wong EK, Livesay GA, Sakane M, Fu FH, Woo SL. Importance of the medial meniscus in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *J Orthop Res* 2000; 18:109-15.
8. Altman RD, Gold GE. Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15(suppl):1-56.
9. Anderson D, Chubinskaya S, Guilak F, Martin JA, Oregama TR, Olson SA, et al. Post-traumatic osteoarthritis: improved understanding and opportunities for early intervention. *J Orthop Res* 2011; 29:802-9.
10. Andriacchi TP, Mundermann A, Smith RL, et al. 2004. A framework for the in vivo pathomechanics of osteoarthritis at the knee. *Ann Biomed Eng* 2004; 32:447-57.
11. Appleton CT, McErlain DD, Pitelka V, Schwartz N, Bernier SM, Henry JL, et al. Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2007; 9:R13.
12. Appleyard R, Burkhardt D, Ghosh P, Read R, Cake M, Swain M, Murrell G Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11:65-77
13. Armstrong CG, B.A., Gardner DL. In vitro measurement of articular cartilage deformations in the intact human hip joint under load. *J Bone Joint Surg (Am)* 1976; 61-A:744-55.
14. Aroen A, Loken S, Heir S, Alvik E, Ekeland A, Granlund OG, et al. Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies. *Am J Sports Med* 2004; 32:211-5.
15. Arunakul M, Tochigi Y, Goetz JE, Diestelmeier BW, Heiner AD, Rudert J, et al. Replication of chronic abnormal cartilage loading by medial meniscus destabilization for modeling osteoarthritis in the rabbit knee in vivo. *J Orthop Res* 2013; 31:1555-60.
16. Atarod M, Frank CB, Shrive NG. Decreased posterior cruciate and altered collateral ligament loading following ACL transection: A longitudinal study in the ovine model. *J Orthop Res* 2014; 32:431-8.

17. Atarod Pilambaraei M, O'Brien EJ, Frank CB, Shrive NG. There is significant load sharing and physical interaction between the anteromedial and posterolateral bundles of the ovine ACL under anterior tibial loads. *Knee* 2012; 19:797-803.
18. Athanasiou KA, Agarwal A, Muffoletto A, Dzida FJ, Constantinides G, Clem M. Biomechanical properties of hip cartilage in experimental animal models. *Clin Orthop Relat Res* 1995; 316:254-66.
19. Atkinson PJ, Haut RC. Injuries produced by blunt trauma to the human patellofemoral joint vary with flexion angle of the knee. *J Orthop Res* 2001; 19:827-33.
20. Backus JD, Furman BD, Swimmer T, Kent CL, McNulty AL, Defrate LE, et al. Cartilage viability and catabolism in the intact porcine knee following transarticular impact loading with and without articular fracture. *J Orthop Res* 2011; 29:501-10.
21. Bansal PN, Joshi NS, Entezari V, Grinstaff MW, Snyder BD. Contrast enhanced computed tomography can predict the glycosaminoglycan content and biomechanical properties of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:184-91.
22. Baranyay FJ, Wang Y, Wluka AE, English DR, Giles GG, Sullivan RO, et al. Association of bone marrow lesions with knee structures and risk factors for bone marrow lesions in the knees of clinically healthy, community-based adults. *Semin Arthritis Rheum* 2007; 37:112-8.
23. Barley RD, Bagnall KM, Jomha NM. Histological scoring of articular cartilage alone provides an incomplete picture of osteoarthritic disease progression. *Histol Histopathol* 2010; 25:291-7.
24. Barr AR, Wotton SF, Dow SM, Waterman AE, Goodship AE, Duance VC. Effect of central or marginal location and postoperative exercise on the healing of osteochondral defects in the equine carpus. *Equine Vet J* 1994; 26:33-9.
25. Bashir A, Gray ML, Boutin RD, Burstein D. Glycosaminoglycan in articular cartilage: in vivo assessment with delayed Gd(DTPA)(2-)-enhanced MR imaging. *Radiology* 1997; 205:551-8.
26. Bashir A, Gray ML, Burstein D. Gd-DTPA2- as a measure of cartilage degradation. *Magn Reson Med* 1996; 36:665-73.
27. Bashir A, Gray ML, Hartke J, Burstein D. Nondestructive imaging of human cartilage glycosaminoglycan concentration by MRI. *Magn Reson Med* 1999; 41:857-65.
28. Beecher BR, Martin JA, Pedersen DR, Heiner AD, Buckwalter JA. Antioxidants block cyclic loading induced chondrocyte death. *Iowa Orthop J* 2007; 27:1-8.
29. Bekkers JE, de Windt TS, Raijmakers NJ, Dhert WJ, Saris DB. Validation of the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) for the treatment of focal cartilage lesions. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:1434-9.
30. Bekkers LEJ, Creemers LB, Dhert WJA, Saris DBF. Diagnostic modalities for diseased articular cartilage. From defect to degeneration. A review. *Cartilage* 2010; 1:157-64.
31. Belcher C, Yaqub R, Fawthrop F, Bayliss M, Doherty M. Synovial fluid chondroitin and keratan sulphate epitopes, glycosaminoglycans and hyaluronan in arthritic and normal knees. *Ann Rheum Dis* 1997; 56:299-307.
32. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stiff LW. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient

- relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol* 1988; 15:1833-40.
33. Bendele AM, Hulman JF. Effects of body weight restriction on the development and progression of spontaneous osteoarthritis in guinea pigs. *Arthritis Rheum* 1991; 34:1180-4.
 34. Bergman AG, Willen HK, Lindstrand AL, Pettersson HT. Osteoarthritis of the knee: correlation of subchondral MR signal abnormalities with histopathologic and radiographic features. *Skeletal Radiol* 1994; 23:445-8.
 35. Beynon BD, Johnson RJ, Abate JA, Fleming BC, Nichols CE. I. Treatment of anterior cruciate ligament injuries, Part 1. *Am J Sports Med* 2005; 33:1579-602.
 36. Bigoni M, Sacerdote P, Turati M, Franchi S, Gandolla M, Gaddi D, et al. Acute and late changes in intraarticular cytokine levels following anterior cruciate ligament injury. *J Orthop Res*. 2013; 31:315-21.
 37. Blanke M, Carl HD, Klinger P, Swoboda B, Hennig F, Gelse K. Transplanted chondrocytes inhibit endochondral ossification within cartilage repair tissue. *Calcif Tissue Int* 2009; 85:421-33.
 38. Boegard T, Rudling O, Petersson IF, Jonsson K. Correlation between radiographically diagnosed osteophytes and magnetic resonance detected cartilage defects in the tibiofemoral joint. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:401-7.
 39. Boegard T, Rudling O, Petersson IF, Jonsson K. Correlation between radiographically diagnosed osteophytes and magnetic resonance detected cartilage defects in the patellofemoral joint. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:395-400.
 40. Borrelli J Jr, Burns ME, Ricci WM, Silva MJ. A method for delivering variable impact stresses to the articular cartilage of rabbit knees. *J Orthop Trauma*. 2002; 16:182-8.
 41. Borrelli J Jr, Silva MJ, Zaegel MA, Franz C, Sandell LJ. Single high energy impact load causes posttraumatic OA in young rabbits via a decrease in cellular metabolism. *J Orthop Res* 2009; 27:347-52.
 42. Tornero-Esteban P, Hoyas JA, Villafuertes E, Garcia-Bullón I, Moro E, Fernández-Gutiérrez B, Marco F. Study of the role of miRNA in mesenchymal stem cells isolated from osteoarthritis patients. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*. 2014 Feb 27 (Epub ahead of Print).
 43. Borthakur A, Mellon E, Nigoyi S, Witschey W, Kneeland JB, Reddy R. Sodium and T1rho MRI for molecular and diagnostic imaging of articular cartilage. *NMR Biomed* 2006; 19:781-821.
 44. Botter SM, van Osch GJ, Waarsing JH, van der Linden JC, Verhaar JA, Pols HA, et al. Cartilage damage pattern in relation to subchondral plate thickness in a collagenase-induced model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:506-14.
 45. Brandt KD, Mazzuca SA, Conrozier T, Dacre JE, Peterfy CG, Provvedini D, et al. Which is the best radiographic protocol for a clinical trial of a structure modifying drug in patients with knee osteoarthritis? *J Rheumatol* 2002; 29:1308-20.
 46. Brandt KD, Myers SL, Burr D, Albrecht M. Osteoarthritic changes in canine articular cartilage, subchondral bone, and synovium fifty-four months after transection of the anterior cruciate ligament. *Arthritis Rheum* 1991; 34:1560-70.
 47. Bray RC, Doschak MR, Gross TS, Zernicke RF. Physiological and mechanical

- adaptations of rabbit medial collateral ligament after anterior cruciate ligament transection. *J Orthop Res* 1997; 15:830-6.
48. Bredella MA, Tirman PF, Peterfy CG, Zarlingo M, Feller JF, Bost FW, et al. Accuracy of T2 weighted fast spin-echo MR imaging with fat saturation in detecting cartilage defects in the knee: comparison with arthroscopy in 130 patients. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 172:1073-80.
 49. Briem K, Axe MJ, Snyder-Mackler L. Medial knee joint loading increases in those who respond to hyaluronan injection for medial knee osteoarthritis. *J Orthop Res* 2009; 27:1420-5.
 50. Brismar BH, Wredmark T, Movin T, Lendersson J, Svensson O. Observer reliability in the arthroscopic classification of osteoarthritis of the knee. *J Bone Joint Surg (Br)* 2002; 84-B:42-7.
 51. Broberg MA, Morrey BF. Results of delayed excision of the radial head after fracture. *J Bone Joint Surg (Am)* 1986; 68-A:669-74.
 52. Broderick LS, Turner DA, Renfrew DL, Schnitzer TJ, Huff JP, Harris C. Severity of articular cartilage abnormality in patients with osteoarthritis: evaluation with fast spin-echo MR vs arthroscopy. *AJR Am J Roentgenol* 1994; 162:99-103.
 53. Brommer H, Brama PA, Laasanen MS, Helminen HJ, van Weeren PR, Jurvelin JS. Functional adaptation of articular cartilage from birth to maturity under the influence of loading: a biomechanical analysis. *Equine Vet J* 2005; 37:148-54.
 54. Brophy RH, Martinez M, Borrelli J Jr, Silva MJ. Effect of combined traumatic impact and radial transection of medial meniscus on knee articular cartilage in a rabbit in vivo model. *Arthroscopy* 2012; 28:1490-6.
 55. Brown TD, Johnston RC, Saltzman CL, Marsh JL, Buckwalter JA. Post-traumatic osteoarthritis: a first estimate of incidence, prevalence, and burden of disease. *J Orthop Trauma* 2006; 20:739-44.
 56. Browne JE, Anderson AF, Arciero R, Mandelbaum B, Moseley JB, Micheli LJ, et al. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects. *Clin Orthop Rel Res* 2005; 436:237-45.
 57. Buck RJ, Wyman BT, Hellio Le Graverand MP, Hudelmaier M, Wirth W, Eckstein F. Osteoarthritis may not be a one-way-road of cartilage loss-comparison of spatial patterns of cartilage change between osteoarthritic and healthy knees. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:329-35.
 58. Buckland W. Radiographic assessment of osteoarthritis: comparison between existing methodologies. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7:430-3.
 59. Buckland-Wright JC, Macfarlane DG, Lynch JA, Jasani MK, Bradshaw CR. Joint space width measures cartilage thickness in osteoarthritis of the knee: high resolution plain film and double contrast macroradiographic investigation. *Ann Rheum Dis* 1995; 54:263-8.
 60. Buckwalter JA, Brown TD. Joint injury, repair, and remodeling: roles in post-traumatic osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 423:7-16.
 61. Buckwalter JA, Kuettner KE, Thonar EJM. Age-related changes in articular cartilage proteoglycans: electron microscopic studies. *J Orthop Res* 1985; 3:251-7.
 62. Buckwalter JA, Mankin HJ, Grodzinsky AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr Course Lect* 2005; 54:465-80.

63. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage, Part II: Degradation and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *J Bone Joint Surg (Am)* 1997; 79A:608-12.
64. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: An instructional course lecture, The Academy of Orthopaedic Surgeons. *J Bone Joint Surg* 1989; 71A:600-32.
65. Buckwalter JA, Saltzman C, Brown TD. The impact of osteoarthritis: implications for research. *Clin Orthop Rel Res* 2004; 427(suppl):6-15.
66. Buma P, Pieper JS, van Tienen T, van Susante JL, van der Kraan PM, Veerkamp JH, et al. Cross-linked type I and type II collagenous matrices for the repair of full-thickness articular cartilage defect: a study in rabbits. *Biomaterials* 2003; 24:3255-63.
67. Burger C, Kabir K, Mueller M, Rangger C, Minor T, Tolba RH. Retropatellar chondromalacia associated with medial osteoarthritis after meniscus injury. One year of observations in sheep. *Eur Surg Res* 2006; 38:102-8.
68. Burkhardt D, Hwa SY, Ghosh P. A novel microassay for the quantitation of the sulfated glycosaminoglycan content of histological sections: its application to determine the effects of Diacerhein on cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9:238-47.
69. Burr DB. The importance of subchondral bone in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10:256-62.
70. Burstein D, Bashir A, Gray ML. MRI techniques in early stages of cartilage disease. *Invest Radiol* 2000; 35:622-38.
71. Burstein D, Velyvis J, Scott KT, Kim YJ, Jaramillo D, Boutin RD, et al. Protocol issues for delayed Gd(DTPA)(2)-enhanced MRI (dGEMRIC) for clinical evaluation of articular cartilage. *Magn Reson Med* 2001; 45:36-41.
72. Butler JC, Andrews JR. The role of arthroscopic surgery in the evaluation of acute traumatic hemarthrosis of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 228:150-2.
73. Bylski-Austrow DI, Malumed J, Meade T, Grood ES. Knee joint contact pressure decreases after chronic meniscectomy relative to the acutely meniscectomized joint: a mechanical study in the goat. *J Orthop Res* 1993; 11:796-804.
74. Cake MA, Appleyard RC, Read RA, Smith MM, Murrell GA, Ghosh P. Ovariectomy alters the structural and biomechanical properties of ovine femoro-tibial articular cartilage and increases cartilage iNOS. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13:1066-75.
75. Cameron ML, Briggs KK, Steadman JR. Reproducibility and reliability of the Outerbridge classification for grading chondral lesions of the knee arthroscopically. *Am J Sports Med* 2003; 31:83-6.
76. Camplejohn KL, Allard SA. Limitations of safranin-O staining in proteoglycan-depleted cartilage demonstrated with monoclonal antibodies. *Histochemistry* 1988; 89:185-8.
77. Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, Wakitani S, Goldberg VM. Principles of cartilage repair and regeneration. *Clin Orthop Relat Res* 1997; 342:254-69.
78. Carlson CS, Guilak F, Vail TP, Gardin JF, Kraus VB. Synovial fluid biomarker levels predict articular cartilage damage following complete medial meniscectomy in the canine knee. *J Orthop Res* 2002; 20:92-100.

79. Carlson CS, Loeser RF, Purser CB, Gardin JF, Jerome CP. Osteoarthritis in cynomolgus macaques. III: Effects of age, gender, and subchondral bone thickness on the severity of disease. *J Bone Miner Res*. 1996;11:1209-17.
80. Chan EF, Liu I-L, Semler EJ, Aberman HM, Simon TM, Chen AC, et al. Association of 3-Dimensional cartilage and bone structure with articular cartilage properties in and adjacent to autologous osteochondral grafts after 6 and 12 months in a goat model. *Cartilage* 2012; 3:255-66.
81. Chang EY, Pallante-Kichura AL, Bae WC, Du J, Statum S, Wolfson T, et al. Development of a comprehensive Osteochondral Allograft MRI Scoring System (OCAMRISS) with histopathologic, micro-Computed Tomography and biomechanical validation. *Cartilage* 2014; 5:16-27.
82. Changoor A, Nelea M, Méthot S, Tran-Khanh N, Chevrier A, Restrepo A, et al. Structural characteristics of the collagen network in human normal, degraded and repair articular cartilages observed in polarized light and scanning electron microscopies. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19:1458-68.
83. Changoor A, Tran-Khanh N, Méthot S, Garon M, Hurtig MB, Shive MS, et al. A polarized light microscopy method for accurate and reliable grading of collagen organization in cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19:126-35.
84. Chevrier A, Nelea M, Hurtig MB, Hoemann CD, Buschmann MD. Meniscus structure in human, sheep, and rabbit for animal models of meniscus repair. *J Orthop Res* 2009; 27:1197-203.
85. Cibere J, Zhang H, Garnero P, Poole AR, Lobanok T, Saxne T, et al. Association of biomarkers with pre-radiographically defined and radiographically defined knee osteoarthritis in a population-based study. *Arthritis Rheum* 2009; 60:1372-80.
86. Cicuttini F, Ding C, Wluka A, Davis S, Ebeling PR, Jones G. Association of cartilage defects with loss of knee cartilage in healthy, middle-age adults: a prospective study. *Arthritis Rheum*. 2005; 52:2033-9.
87. Cicuttini F, Forbes A, Morris K, Darling S, Bailey M, Stuckey S. Gender differences in knee cartilage volume as measured by magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999; 7:265-71.
88. Cicuttini FM, Forbes A, Yuanyuan W, Rush G, Stuckey SL. Rate of knee cartilage loss after partial meniscectomy. *J Rheumatol* 2002; 29:1954-6.
89. Cicuttini FM, Wluka A, Bailey M, O'Sullivan R, Poon C, Yeung S, Ebeling PR. Factors affecting knee cartilage volume in healthy men. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42:258-62.
90. Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso CR, Porto LC, et al. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:1088-95.
91. Codesido P, Leyes M, Forriol F. Relación entre el mecanismo de producción y las lesiones concomitantes en las roturas de ligamento cruzado anterior. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol* 2009; 53:231-6.
92. Cohen ZA, McCarthy DM, Kwak SD, Legrand P, Fogarasi F, Ciaccio EJ, et al. Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: in-vitro calibration and in-vivo measurements. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7:95-109.

93. Collins DH, McElligott TF. Sulphate ($^{35}\text{SO}_4$) uptake by chondrocytes in relation to histological changes in osteoarthritic human articular cartilage. *Ann Rheum Dis* 1960; 19:318-30.
94. Colombo C, Butler M, O'Byrne E, Hickman L, Swartzendruber D, Selwyn M, et al. A new model of osteoarthritis in rabbits. I. Development of knee joint pathology following lateral meniscectomy and section of the fibular collateral and sesamoid ligaments. *Arthritis Rheum* 1983; 26:875-86.
95. Conaghan P, Tennant A, Peterfy C, Woodworth T, Stevens R, Guermazi A, et al. Examining a whole-organ magnetic resonance imaging scoring system for osteoarthritis of the knee using Rasch analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 2006;14(Suppl 1):116-21.
96. Conaghan PG, Felson D, Gold G, Lohmander S, Totterman S, Altman R. MRI and non-cartilaginous structures in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2006;14(Suppl A):A87-94.
97. Conrozier T, Favret H, Mathieu P, Piperno M, Provvedi D, Taccon A, et al. Influence of the quality of tibial plateau alignment on the reproducibility of computer joint space measurement from Lyon schuss radiographic views of the knee in patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12:765-70.
98. Cook SD, Patron LP, Salkeld SL, Rueger DC. Repair of articular cartilage defects with osteogenic protein-1 (BMP-7) in dogs. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 85-A(Suppl 3):116-23.
99. Croucher LJ, Hollander AP. Differential detection of type II collagen N-terminal and C-terminal denaturation epitopes in degrading cartilage. *Mol Pathol* 1999; 52:323-31.
100. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997; 13:456-60.
101. Custers RJ, Creemers LB, Verbout AJ, van Rijen MH, Dhert WJ, Saris DB. Reliability, reproducibility and variability of the histologic/histochemical grading system vs the new OARSI osteoarthritis cartilage histopathology assessment system. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15:1241-8.
102. D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Colwell CW Jr, Lotz MK. Prevention of chondrocyte apoptosis. *J Bone Joint Surg (Am)* 2001; 83-A (suppl 2):25-6.
103. Daniel DM, Stone ML, Dobson BE, Fithian DC, Rossman DJ, Kaufman KR. Fate of the ACL-injured patient. A prospective outcome study. *Am J Sports Med* 1994; 22:632-44.
104. Dausse Y, Grossin L, Miralles G, Pelletier S, Mainard D, Hubert P, et al. Cartilage repair using new polysaccharidic biomaterials: macroscopic, histological and biochemical approaches in a rat model of cartilage defect. *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11:16-28.
105. David-Vaudey E, Ghosh S, Ries M, Majumdar S. T2 relaxation time measurements in osteoarthritis. *Magn Reson Imaging* 2004; 22:673-82.
106. Davidson PA, Rivenburgh DW, Dawson PE, Rozin R. Clinical, histologic, and radiographic outcomes of distal femoral resurfacing with hypothermically stored osteoarticular allografts. *Am J Sports Med* 2007; 35:1082-90.
107. de Windt TS, Welsch GH, Brittberg M, Vonk L, Marlovits S, Trattnig S, et al. Correlation between magnetic resonance imaging and clinical outcomes after knee

- cartilage repair: letter to the editor. *Am J Sports Med* 2013; 41: 48-50.
108. Dedrick DK, Goldstein SA, Brandt KD, O'Connor BL, Goulet RW, Albrecht M. A longitudinal study of subchondral plate and trabecular bone in cruciate-deficient dogs with osteoarthritis followed up for 54 months. *Arthritis Rheum* 1993; 36:1460-7.
 109. Defrate LE, Papannagari R, Gill TJ, Moses JM, Pathare NP, Li G. The 6 degrees of freedom kinematics of the knee after anterior cruciate ligament deficiency: an in vivo imaging analysis. *Am J Sports Med* 2006; 34:1240-6.
 110. Delmaier M, Glaser C, Englmeier KH, Reiser M, Putz R, Eckstein F. Correlation of knee-joint cartilage morphology with muscle cross-sectional areas vs. anthropometric variables. *Anat Rec* 2003; 270A:175-84.
 111. Diaz R, Kidwell M, Albright J, Dolan L. Knee cartilage defect documentation: computer assistance in quantification of cartilage defects. *Orthopedics* 2005; 28(10 suppl):1275-6.
 112. Ding M, Dalstra M, Linde F, Hvid I. Changes in the stiffness of the human tibial cartilage-bone complex in early-stage osteoarthrosis. *Acta Orthop Scand* 1998; 69:358-62.
 113. Dirschl DR, Adams GL. A critical assessment of factors influencing reliability in the classification of fractures, using fractures of the tibial plafond as a model. *J Orthop Trauma* 1997; 11:471-6.
 114. Dirschl DR, Marsch JL, Buckwalter JA, Gelberman R, Olson SA, Brown TD, et al. Articular fractures. *J Am Acad Orthop Surg* 2004; 12:416-23.
 115. Disler DG, McCauley TR, Kelman CG, Fuchs MD, Ratner LM, Wirth CR, et al. Fat-suppressed three-dimensional spoiled gradient-echo MR imaging of hyaline cartilage defects in the knee: comparison with standard MR imaging and arthroscopy. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167:127-32.
 116. Dougados M, Ayral X, Llistrat V, Guegen A, Bahuaud J; Beaufils P, et al. The SFA system for assessing articular cartilage lesions at arthroscopy of the knee. *Arthroscopy* 1994; 10:69-77.
 117. Eckstein F, Cicuttini F, Raynauld JP, Waterton JC, Peterfy C. Magnetic Resonance Imaging (MRI) of articular cartilage in knee osteoarthritis (OA): morphological assessment. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14(suppl A):46-75.
 118. Eckstein F, Reiser M, Englmeier KH, Putz R. In vivo morphometry and functional analysis of human articular cartilage with quantitative magnetic resonance imaging e from image to data, from data to theory. *Anat Embryol (Berl)* 2001; 203:147-73.
 119. Eckstein F, Winzheimer M, Westhoff J, Schnier M, Haubner M, Englmeier KH, et al. Quantitative relationships of normal cartilage volumes of the human knee joint e assessment by magnetic resonance imaging. *Anat Embryol (Berl)* 1998; 197:383-90.
 120. El-Arman MM, El-Fayoumi G, El-Shal E, El-Boghdady I, El-Ghaweet A. Aggrecan and cartilage oligomeric matrix protein in serum and synovial fluid of patients with knee osteoarthritis. *HSS J.* 2010; 6:171-6.
 121. Elsaid KA, Chichester CO. Review: Collagen markers in early arthritic diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 365:68-77.
 122. Engelhart L, Nelson L, Lewis S, Mordin M, Demuro-Mercon C, Uddin S, et al.

- Validation of the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score subscales for patients with articular cartilage lesions of the knee. *Am J Sports Med* 2012; 40:2264-72.
123. Esparza R, Gortazar AR, Forriol F. Cell study of the three areas of the meniscus: effect of growth factors in an experimental model in sheep. *J Orthop Res*. 2012; 30:1647-51
 124. Ewers BJ, Weaver BT, Sevensma ET, Haut RC. Chronic changes in rabbit retro-patellar cartilage and subchondral bone after blunt impact loading of the patello-femoral joint. *J Orthop Res* 2002; 20:545-50.
 125. Eyre DR. Collagens and cartilage matrix homeostasis. *Clin Orthop Rel Res* 2004; 427 (suppl):118-22.
 126. Felson DT, Gale DR, Elon Gale M, Niu J, Hunter DJ, Goggins J, et al. Osteophytes and progression of knee osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:100-4.
 127. Felson DT, Lawrence RC, Dieppe PA, Hirsch R, Helmick CG, Jordan JM, et al. Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. *Ann Intern Med* 2000;133:635-46.
 128. Felson DT, Lynch J, Guermazi A, Roemer FW, Niu J, McAlindon T, et al. Comparison of BLOKS and WOMBS scoring systems part II. Longitudinal assessment of knee MRIs for osteoarthritis and suggested approach based on their performance: data from the osteoarthritis initiative. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:1402-7.
 129. Felson DT, McLaughlin S, Goggins J, LaValley MP, Gale ME, Totterman S, et al. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2003; 139:330-6.
 130. Felson DT, Naimark A, Anderson J, Kazis L, Castelli W, Meenan RF. The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 914-8.
 131. Felson DT, Zhang Y. An update on the epidemiology of knee and hip osteoarthritis with a view to prevention. *Arthritis Rheum* 1998; 41:1343-55.
 132. Felson DT. An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiol Clin North Am* 2004;42:1-9.
 133. Ferber R, Osternig LR, Woollacott MH, Wasielewski NJ, Lee JH. Gait mechanics in chronic ACL deficiency and subsequent repair. *Clin Biomech* 2002; 17:274-85.
 134. Fithian DC, Paxton LW, Goltz DH. Fate of the anterior cruciate ligament-injured knee. *Orthop Clin North Am* 2002; 33:621-36.
 135. Fleiss JL, Shrout PE. The effects of measurement errors on some multivariate procedures. *Am J Public Health* 1977; 67:1188-91.
 136. Foland JW, McIlwraith CW, Trotter GW, Powers BE, Lamar CH. Effect of beta-methasone and exercise on equine carpal joints with osteochondral fragments. *Vet Surg* 1994; 23:369-76.
 137. Forriol F, Longo UG, Alvarez E, Campi S, Ripalda P, Rabitti C, et al. Scanty integration of osteochondral allografts cryopreserved at low temperatures with dimethyl sulfoxide. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011; 19:1184-91.
 138. Forriol F, Longo UG, Hernández-Vaquero D, Monllau JC, Montserrat F, Valentí JR, Vaquero J, et al. The effect of previous meniscus and anterior cruciate liga-

- ment injuries in patients with total knee arthroplasty. *Ortop Traumatol Rehabil* 2010; 12:50-7.
139. Fortier LA, Potter HG, Rickey EJ, Schnabel LV, Foo LF, Chong LR, et al. Concentrated bone marrow aspirate improves fullthickness cartilage repair compared with microfracture in the equine model. *J Bone Joint Surg (Am)* 2010; 92-A:1927-37.
 140. Fragonas E, Mlynarik V, Jellus V, Micali F, Piras A, Toffanin R, et al. Correlation between biochemical composition and magnetic resonance appearance of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 1998; 6:24-32.
 141. Freemont AJ, Hampson V, Tilman R, Goupille P, Taiwo Y, Hoyland JA. Gene expression of matrix metalloproteinases 1, 3, and 9 by chondrocytes in osteoarthritic human knee articular cartilage is zone and grade specific. *Ann Rheum Dis* 1997; 56:542-9.
 142. Freimert B, Oberlander Y, Schwart W, Häberle HJ, Bähren W, Gerngross H, et al. Diagnosis of chondral lesions of the knee joint: can MRI replace arthroscopy?. *Knee Sports Traumatology, Arthroscopy* 2004; 12:58-64.
 143. Frenkel SR, Bradica G, Brekke JH, Goldman SM, Ileska K, Issack P, et al. Regeneration of articular cartilageevaluation of osteochondral defect repair in the rabbit using multiphasic implants. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13:798-807.
 144. Frenkel SR, Kubiak EN, Truncala KG. The repair response to osteochondral implant types in a rabbit model. *Cell Tissue Bank* 2006; 7:29-37.
 145. Frenkel SR, Saadeh PB, Mehrara BJ, Chin GS, Steinbrech DS, Brent B, et al. Transforming growth factor beta superfamily members: role in cartilage modeling. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105:980-90.
 146. Fretz PB, Cymbaluk NF, Pharr JW. Quantitative analysis of long-bone growth in the horse. *Am J Vet Res* 1984; 45:1602-9.
 147. Frisbie DD, Bowman SM, Colhoun HA, DiCarlo EF, Kawcak CE, McIlwraith CW. Evaluation of autologous chondrocyte transplantation via a collagen membrane in equine articular defects: results at 12 and 18 months. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:667-79.
 148. Frisbie DD, Cross MW, McIlwraith CW. A comparative study of articular cartilage thickness in the stifle of animal species used in human pre-clinical studies compared to articular cartilage thickness in the human knee. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2006; 19:142-6.
 149. Frobell RB, Nevitt MC, Hudelmaier M, Wirth W, Wyman BT, Benichou O, et al. Femorotibial subchondral bone area and regional cartilage thickness: a cross-sectional description in healthy reference cases and various radiographic stages of osteoarthritis in 1,003 knee from Osteoarthritis Initiative. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010; 62:1612-23.
 150. Funakoshi Y, Hariu M, Tapper JE, Marchuk LL, Shrive NG, Kanaya F, et al. Peri-articular ligament changes following ACL/MCL transection in an ovine stifle joint model of osteoarthritis. *J Orthop Res* 2007; 25:997-1006.
 151. Martínez de Albornoz P, Forriol F. Changes in synovial fluid in different knee-joint diseases. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*. 2012 Mar-Apr;56(2):140-8.

152. Gale DR, Chaisson CE, Totterman SM, Schwartz RK, Gale ME, Felson D. Meniscal subluxation: association with osteoarthritis and joint space narrowing. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7:526-32.
153. Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-Pinzano A, Cournil-Henrionnet C, Loeuille D, et al. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004; 12:779-86.
154. Gandy SJ, Dieppe PA, Keen MC, Maciewicz RA, Watt I, Waterton JC. No loss of cartilage volume over three years in patients with knee osteoarthritis as assessed by magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10:929-37.
155. Garnero P, Ayral X, Rousseau JC, Christgau S, Sandell LJ, Dougados M, et al. Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2002; 46:2613-24.
156. Gelber AC, Hochberg MC, Mead LA, Wang NY, Wigley FM, Klag MJ. Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2000; 133:321-8.
157. Gelse K, Soder S, Eger W, Diemtar T, Aigner T. Osteophyte development molecular characterization of differentiation stages. *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11:141-8.
158. Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, Carlson CS. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(Suppl 3):S24-34.
159. Ghosh P, Burkhardt D, Read R, Bellenger C. Recent advances in animal models for evaluating chondroprotective drugs. *J Rheumatol Suppl* 1991; 27:143-6.
160. Ghosh P, Numata Y, Smith S, Read R, Armstrong S, Johnson K. The metabolic response of articular cartilage to abnormal mechanical loading induced by medial or lateral meniscectomy. *Agents Actions (Suppl)* 1993; 39:89-93.
161. Ghosh P, Read R, Numata Y, Smith S, Armstrong S, Wilson D. The effects of intra-articular administration of hyaluronan in a model of early osteoarthritis in sheep. II. Cartilage composition and proteoglycan metabolism. *Semin Arthritis Rheum* 1993; 22:31-42.
162. Gillquist J, Messner K. Anterior cruciate ligament reconstruction and the long-term incidence of gonarthrosis. *Sports Med* 1999; 27:143-56.
163. Gilmore RS, Palfrey AJ. A histological study of human femoral condylar articular cartilage. *J Anat* 1987; 155:77-85.
164. Glasson SS, Chambers MG, Van Den Berg WB, Little CB. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the mouse. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(Suppl 3):S17-23.
165. Glenn RE Jr, McCarty EC, Potter HG, Juliao SF, Gordon JD, Spindler KP. Comparison of fresh osteochondral autografts and allografts: a canine model. *Am J Sports Med* 2006; 34:1084-93.
166. Goebel L, Orth P, Müller A, Zurakowski D, Bückner A, Cucchiaroni M, et al. Experimental scoring systems for macroscopic articular cartilage repair correlate with the MOCART score assessed by a high-field MRI at 9.4 T--comparative evaluation of five macroscopic scoring systems in a large animal cartilage defect model. *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20:1046-55.

167. Gold GE, Chen CA, Koo S, Hargreaves BA, Bangerter NK. Recent advances in MRI of articular cartilage. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193:628-38.
168. Goldring MB, Birkhead J, Sandell LJ, Kimura T, Krane SM. Interleukin 1 suppresses expression of cartilage-specific types II and IX collagens and increases types I and III collagens in human chondrocytes. *J Clin Invest.* 1988; 82:2026-37.
169. Goldring SR, Goldring MB. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; 427(Suppl):S27-36.
170. Goodrich LR, Hidaka C, Robbins PD, Evans CH, Nixon AJ. Genetic modification of chondrocytes with insulin-like growth factor-1 enhances cartilage healing in an equine model. *J Bone Joint Surg Br* 2007; 89:672-85.
171. Goodwin W, McCabe D, Sauter E, Reese E, Walter M, Buckwalter JA, et al. Rotenone prevents impact-induced chondrocyte death. *J Orthop Res* 2010; 28:1057-63.
172. Grant BD. Repair mechanisms of osteochondral defects in Equidae: a comparative study of untreated x-irradiated defects. *Proc Annu Meet Am Assoc Equine Pract* 1975; 21:95-114.
173. Gray ML, Burstein D, Kim YJ, Maroudas A. 2007 Elisabeth Winston Lanier Award Winner. Magnetic resonance imaging of cartilage glycosaminoglycan: basic principles, imaging technique, and clinical applications. *J Orthop Res* 2008; 26:281-91.
174. Greco NJ, Anderson AF, Mann BJ, Cole BJ, Farr J, Nissen CW, et al. Responsiveness of the International Knee Documentation Committee Subjective Knee Form in comparison to the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, Modified Cincinnati Knee Rating System and Short Form 36 in patients with focal articular cartilage defects. *Am J Sports Med* 2010; 38:891-902.
175. Grogan SP, Barbero A, Winkelmann V, Rieser F, Fitzsimmons JS, O'Driscoll S, et al. Visual histological grading system for the evaluation of in vitro-generated neocartilage. *Tissue Eng* 2006; 12: 2141-9.
176. Guccione AA, Felson DT, Anderson JJ, Anthony JM, Zhang Y, Wilson PW, et al. The effects of specific medical conditions on the functional limitations of elders in the Framingham study. *Am J Publ Health* 1994; 84:351-8.
177. Guisasola I, Vaquero J, Forriol F. Knee immobilization on meniscal healing after suture: an experimental study in sheep. *Clin Orthop Rel Res* 2002; 395:227-33.
178. Guymer E, Baranyay F, Wluka AE, Hanna F, Bell RJ, Davis SR, et al. A study of the prevalence and associations of subchondral bone marrow lesions in the knees of healthy, middle-aged women. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15:1437-42.
179. Hannan MT, Felson DT, Pincus T. Analysis of the discordance between radiographic changes and knee pain in osteoarthritis of the knee. *J Rheum* 2000; 27:1513-7.
180. Hastings 2nd H, Graham TJ. The classification and treatment of heterotopic ossification about the elbow and forearm. *Hand Clin* 1994; 10:417-37.
181. Haut RC, Ide TM, De Camp CE. Mechanical responses of the rabbit patello-femoral joint to blunt impact. *J Biomech Eng.* 1995; 117:402-8.
182. Heiner AD, Martin JA, McKinley TO, Goetz JE, Thedens DR, Brown TD. Frequency content of cartilage impact force signal reflects acute histologic structural damage. *Cartilage* 2012; 3:314-22.

183. Hellio Le Graverand MP, Buck RJ, Wyman BT, Vignon E, Mazzuca SA, Brandt KD, et al. Subregional femorotibial cartilage morphology in women-comparison between healthy controls and participants with different grades of radiographic knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:1177-85.
184. Henderson I, Tuy B, Oakes B. Reoperation after autologous chondrocyte implantation. Indications and findings. *J Bone Joint Surgery (Br)* 2004; 86-B:205-11.
185. Hinek A, Reiner A, Poole AR. The calcification of cartilage matrix in chondrocyte culture: studies of the C-propeptide of type II collagen (chondrocalcin). *J Cell Biol.* 1987; 104:1435-41.
186. Hinterwimmer S, Baumgart R, Plitz W. Tension changes in the collateral ligaments of a cruciate ligamentdeficient knee joint: an experimental biomechanical study. *Arch Orthop Trauma Surg* 2002; 122:454-8.
187. Hirvasniemi J1, Kulmala KA, Lammentausta E, Ojala R, Lehenkari P, Kamel A, et al. In vivo comparison of delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage and delayed quantitative CT arthrography in imaging of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21:434-42.
188. Hjelle K, Solheim E, Strand T, Muri R, Brittberg M. Articular cartilage defects in 1000 knees arthroscopies. *Arthroscopy* 2002; 18:730-4.
189. Ho C, Cervilla V, Kjellin I, Haghighi P, Amiel D, Trudell D, et al. Magnetic resonance imaging in assessing cartilage changes in experimental osteoarthrosis of the knee. *Invest Radiol* 1992; 27:84-90.
190. Hoch DH, Grodzinsky AJ, Koob TJ, Albert ML, Eyre DR. Early changes in material properties of rabbit articular cartilage after meniscectomy. *J Orthop Res* 1983; 1:4-12.
191. Hoemann CD, Sun J, Chrzanowski V, Buschmann MD. A multivalent assay to detect glycosaminoglycan, protein, collagen, RNA and DNA content in miligram samples of cartilage or hidrogel-based repair cartilage. *Anal Biochem* 2002; 300:1-10.
192. Hopkins SJ, Humphreys M, Jayson MI. Cytokines in synovial fluid. I. The presence of biologically active and immunoreactive IL-1. *Clin Exp Immunol.* 1988; 72:422-7.
193. Howard JS, Lattermann Ch, Hoch JM, Mattacola CG, Medina McKeon JM. Comparing responsiveness of six common patient – reported outcomes to changes following autologous chondrocyte implantation: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Cartilage* 2012;4:97-110.
194. Huang GS, Lee HS, Chou MC, Shih YY, Tsai PH, Lin MH, et al. Quantitative MR T2 measurement of articular cartilage to assess the treatment effect of intra-articular hyaluronic acid injection on experimental osteoarthritis induced by ACLX. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:54-60.
195. Hudelmaier M, Glaser C, Englmeier KH, Reiser M, Putz R, Eckstein F. Correlation of knee-joint cartilage morphology with muscle cross-sectional areas vs. Anthropometric variables. *Anat Rec* 2003; 270A:175-84.
196. Hudelmaier M, Glaser C, Hohe J, Englmeier KH, Reiser M, Putz R, et al. Age-related changes in the morphology and deformational behavior of knee joint cartilage. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2556-61.

197. Hunter D, Conaghan P, Peterfy C, Bloch D, Guermazi A, Woodworth T, et al. Responsiveness, effect size, and smallest detectable difference of magnetic resonance imaging in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14(Suppl 1):112–5.
198. Hunter DJ, Guermazi A, Lo GH, Grainger AJ, Conaghan PG, Boudreau RM, Roemer FW. Evolution of semi-quantitative whole joint assessment of knee OA: MOAKS (MRI Osteoarthritis Knee Score). *Osteoarthritis Cartilage*. 2011; 19:990-1002.
199. Hunter DJ, Lo GH, Gale D, Grainger AJ, Guermazi A, Conaghan PG. The reliability of a new scoring system for knee osteoarthritis MRI and the validity of bone marrow lesion assessment: BLOKS (Boston Leeds Osteoarthritis Knee Score). *Ann Rheum Dis* 2008; 67:206-11
200. Hunter DJ, Zhang Y, Niu J, Goggins J, Amin S, LaValley MP, et al. Increase in bone marrow lesions associated with cartilage loss: a longitudinal magnetic resonance imaging study of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54:1529-35.
201. Hunziker EB, Kapfinger E, Geiss J. The structural architecture of adult mammalian articular cartilage evolves by a synchronized process of tissue resorption and neoformation during postnatal development. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15:403-13.
202. Hurd WJ, Snyder-Mackler L. Knee instability after acute ACL rupture affects movement patterns during the mid-stance phase of gait. *J Orthop Res* 2007; 25:1369-77.
203. Hurtig M, Chubinskaya S, Dickey J, Rueger D. BMP-7 protects against progression of cartilage degeneration after impact injury. *J Orthop Res* 2009; 27:602-11.
204. Hurtig MB, Fretz PB, Doige CE, Schnurr DL. Effects of lesion size and location on equine articular cartilage repair. *Can J Vet Res* 1988; 52:137-46.
205. Hurtig MB, Novak K, McPherson R, McFadden S, McGann LE, Muldrew K, et al. Osteochondral dowel transplantation for repair of focal defects in the knee: an outcome study using an avian model. *Vet Surg* 1998; 27:5-16.
206. Hwa SY, Burkhardt D, Little C, Ghosh P. The effects of orally administered diacerein on cartilage and subchondral bone in an ovine model of osteoarthritis. *J Rheumatol* 2001; 28:825-34.
207. Hyllested JL, Veje K, Ostergaard K. Histochemical studies of the extracellular matrix of human articular cartilage: a review. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10:333-43.
208. Igarashi T, Iwasaki N, Kawamura D, Tsukuda Y, Kasahara Y, Todoh M, et al. Therapeutic effects on intra-articular ultrapurified low endotoxin alginate administration on experimental osteoarthritis in rabbits. *Cartilage* 2012; 3:70-8.
209. Ikenoue T, Trindade MC, Lee MS, Lin EY, Schurman DJ, Goodman SB, et al. Mechanoregulation of human articular chondrocyte aggrecan and type II collagen expression by intermittent hydrostatic pressure in vitro. *J Orthop Res* 2003; 21:110-6.
210. Indelicato PA, Bittar ES. A perspective of lesions associated with ACL insufficiency of the knee. A review of 100 cases. *Clin Orthop Rel Res* 1985; 198:77-80.
211. Intema F, Hazewinkel HA, Gouwens D, Bijlsma JW, Weinans H, Lefeber FP, et al. In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage

- damage: results from a canine ACLT-menisectomy model. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:691-8.
212. Irrgang JJ, Anderson AF, Boland AL, Harner CD, Kurosaka M, Neyret P, et al. Development and validation of the International Knee Documentation Committee Subjective Knee Form. *Am J Sports Med* 2001; 29:600-13.
 213. Jackson BD, Teichtahl AJ, Morris ME, Wluka AE, Davis SR, Cicuttini FM. The effect of the knee adduction moment on tibial cartilage volume and bone size in healthy women. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43:311-4.
 214. Jang KW, Buckwalter JA, Martin JA. Inhibition of cell-matrix adhesions prevents cartilage chondrocyte death following impact injury. *J Orthop Res* 2014; 32:448-54.
 215. Jarvela T, Kannus P, Jarvinen M. Anterior cruciate ligament reconstruction in patients with or without accompanying injuries: a re-examination of subjects 5 to 9 years after reconstruction. *Arthroscopy* 2001; 17:818-25.
 216. Jiang CC, Chiang H, Liao CJ, Lin YJ, Kuo TF, Shieh CS, et al. Repair of porcine articular cartilage defect with a biphasic osteochondral composite. *J Orthop Res* 2007; 25:1277-90.
 217. Jones G, Bennell K, Cicuttini FM. Effect of physical activity on cartilage development in healthy kids. *Br J Sports Med* 2003;37:382e3.
 218. Jones G, Ding C, Scott F, Cicuttini F. Genetic mechanisms of knee osteoarthritis: a population based case control study. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1255-9.
 219. Jones G, Ding C, Scott F, Glisson M, Cicuttini F. Early radiographic osteoarthritis is associated with substantial changes in cartilage volumen and tibial bone surface área in both males and females. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12:169-74.
 220. Jones G, Glisson M, Hynes K, Cicuttini F. Sex and site ces in cartilage development: a possible explanation for variations in knee osteoarthritis in later life. *Arthritis Rheum* 2000; 43:2543-9.
 221. Jorgensen U, Sonne-Holm S, Lauridsen F, Rosenklint A. Long-term follow-up of meniscectomy in athletes. A prospective longitudinal study. *J Bone Joint Surg [Br]* 1987; 69-B:80-3.
 222. Jupiter JB. Complex articular fractures of the distal radius: classification and management. *J Am Acad Orthop Surg* 1997; 5:119-29.
 223. Kaeding CC, Pedroza AD, Parker RD, Spindler KP, McCarty EC, Andrish JT. 2005. Intraarticular findings in the reconstructed multiligamentinjured knee. *Arthroscopy* 21:424–430.
 224. Kahle P, Saal JG, Schaudt K, Zacher J, Fritz P, Pawelec G. Determination of cytokines in synovial fluids: correlation with diagnosis and histomorphological characteristics of synovial tissue. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:731-4.
 225. Kandel RA, Chen H, Clark J, Renlund R. Transplantation of cartilagenous tissue generated in vitro into articular joint defects. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1995; 23:565-77.
 226. Kang Y, Koepp H, Cole AA, Kuettner KE, Homandberg GA. Cultured human ankle and knee cartilage differ in susceptibility to damage mediated by fibronectin fragments. *J Orthop Res* 1998; 16:551-6.

227. Kaplan LD, Schurhoff MR, Selesnick H, Thorpe M, Uribe JW. Magnetic resonance imaging of the knee in asymptomatic professional basketball players. *Arthroscopy* 2005; 21:557-61.
228. Karvonen RL, Negendank WG, Teitge RA, Reed AH, Miller PR, Fernandez-Madrid F. Factors affecting articular cartilage thickness in osteoarthritis and aging. *J Rheumatol* 1994;21:1310-8.
229. Kawahara Y, Uetani M, Nakahara N, Doiguchi Y, Nishiguchi M, Futagawa S, et al. Fast spin-echo MR of the articular cartilage in the osteoarthrotic knee. Correlation of MR and arthroscopic findings. *Acta Radiol* 1998; 39:120-5.
230. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16:494-502.
231. Kelly BT, Potter HG, Deng XH, Pearle AD, Turner AS, Warren RF, et al. Meniscal allograft transplantation in the sheep knee: evaluation of chondroprotective effects. *Am J Sports Med* 2006; 34:1464-77.
232. Kijowski R, Blankenbaker DG, Davis KW, Shinki K, Kaplan LD, De Smet AA. Comparison of 1.5- and 3.0-T MR imaging for evaluating the articular cartilage of the knee joint. *Radiology* 2009; 250:839-48.
233. Kijowski R, Blankenbaker DG, Stanton PT, Fine JP, DE Smet AA. Arthroscopic validation of radiographic grading scales of osteoarthritis of the tibiofemoral joint. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187:794-9.
234. Kijowski R, Blankenbaker DG, Stanton PT, Fine JP, DE Smet AA. Radiographic findings of osteoarthritis versus arthroscopic findings of articular cartilage degeneration in the tibiofemoral joint. *Radiology* 2006; 239:818-24.
235. Kijowski R, Stanton P, Fine J, De Smet A. Subchondral bone marrow edema in patients with degeneration of the articular cartilage of the knee joint. *Radiology* 2006; 238:943-9.
236. Kikuchi T, Yamada H, Shimmei M. Effect of high molecular weight hyaluronan on cartilage degeneration in a rabbit model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 1996; 4:99-110.
237. Knoll Z, Kiss RM, Kocsis L. Gait adaptation in ACL deficient patients before and after anterior cruciate ligament reconstruction surgery. *J Electromyogr Kinesiol* 2004; 14:287-94.
238. Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Grontvedt T, Solheim E, et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee: A randomized trial. *J Bone Joint Surg (Am)* 2004; 86-A: 455-64.
239. Kocher MS, Steadman JR, Briggs KK, Sterett WI, Hawkins RJ. Reliability, validity and responsiveness of the Lysholm Knee Scale for various chondral disorders of the knee. *J Bone Joint Surg (Am)* 2004; 86-A:1139-45.
240. Koh J, Dietz J. Osteoarthritis in other joints (hip, elbow, foot, ankle, toes, wrist) after sports injuries. *Clin Sports Med* 2005; 24:57-70.
241. Kokkonen HT, Aula AS, Kröger H, Suomalainen J-S, Lammementausta E, Mervaala E, et al. Delayed computed tomography arthrography of human knee cartilage in vivo. *Cartilage* 2013; 3:334-41.
242. Kokkonen HT, Suomalainen J-S, Joukainen A, Kröger H, Sirola J, Jurvelin JS, et al. In vivo diagnostics of human knee cartilage lesions using delayed CBCT Arthrography. *J Orthop Res* 2014; 32:403-12.

243. Kornaat PR, Ceulemans RY, Kroon HM, Riyazi N, Kloppenburg M, Carter WO, et al. MRI assessment of knee osteoarthritis: Knee Osteoarthritis Scoring System (KOSS) – inter-observer and intra-observer reproducibility of a compartment-based scoring system. *Skeletal Radiol* 2005; 34:95-102.
244. Kornaat PR, Kloppenburg M, Sharma R, Botha-Scheepers SA, Le Graverand MP, Coene LN, et al. Bone marrow edema-like lesions change in volume in the majority of patients with osteoarthritis; associations with clinical features. *Eur Radiol* 2007;17:3073-8.
245. Kraniotis P, Maragkos S, Tyllianakis M, et al. Ankle post-traumatic osteoarthritis: a CT arthrography study in patients with bi- and trimalleolar fractures. *Skeletal Radiol* 2012; 41:803-9.
246. Kuroki H, Nakagawa Y, Mori K, Ohba M, Suzuki T, Mizuno Y, et al. Acoustic stiffness and change in plug cartilage over time after autologous osteochondral grafting: correlation between ultrasound signal intensity and histological score in a rabbit model. *Arthritis Res Ther* 2004; 6:R492-504.
247. Kuroki K1, Cook CR, Cook JL. Subchondral bone changes in three different canine models of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2011 Sep;19(9):1142-9.
248. Kurosawa H, Fukubayashi T, Nakajima H. Loadbearing mode of the knee joint: physical behavior of the knee joint with or without menisci. *Clin Orthop Rel Res* 1980; 149:283–90.
249. Laasanen MS, Töyräs J, Korhonen RK, Rieppo J, Saarakkala S, Nieminen MT, et al. Biomechanical properties of knee articular cartilage. *Biorheology* 2003; 40:133-40.
250. Laird A, Keating JF. Acetabular fractures: a 16-year prospective epidemiological study. *J Bone Joint Surg (Br)* 2005; 87-B:969-73.
251. Lajeunesse D, Reboul P. Subchondral bone in osteoarthritis: a biologic link with articular cartilage leading to abnormal remodeling. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15:628-33.
252. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33:159-74.
253. Lane JG, Massie JB, Bell ST, Amiel ME, Chen AC, Bae WC, et al. Follow-up of osteochondral plug transfers in a goat model: a 6-month study. *Am J Sports Med* 2004; 32:1440-50.
254. Lane JM, Brighton CT, Ottens HR, Lipton M. Joint resurfacing in the rabbit using an autologous osteochondral graft:a biochemical and metabolic study of cartilage viability. *J Bone Joint Surg (Am)* 1977; 59-A:218-22.
255. Lanyon P, O'Reilly S, Jones A, Doherty M. Radiographic assessment of symptomatic knee osteoarthritis in the community: definitions and normal joint space. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:595–601.
256. LaPrade RF, Burnett QM, Veenstra MA, Hodgman CG. The prevalence of abnormal magnetic resonance imaging findings in asymptomatic knees. With correlation of magnetic resonance imaging to arthroscopic findings in symptomatic knees. *Am J Sports Med* 1994; 22:739-45.
257. Latimer HA, Tibone JE, El Attrache NS, McMahon PJ. Reconstruction of the lateral collateral ligament of the knee with patellar tendon allograft. *Am J Sports Med* 1998; 26: 656-62.

258. Laurent D, O'Byrne E, Wasvary J, Pellas TC. In vivo MRI of cartilage pathogenesis in surgical models of osteoarthritis. *Skeletal Radiol* 2006; 35:555-64.
259. Lecouvet FE, Dorzee B, Dubuc JE, et al. 2007. Cartilage lesions of the glenohumeral joint: diagnostic effectiveness of multidetector spiral CT arthrography and comparison with arthroscopy. *Eur Radiol* 2007; 17:1763-71.
260. Lee KT, Choi YS, Lee YK, Cha SD, Koo HM. Comparison of MRI and arthroscopy in modified MOCART scoring system after autologous chondrocyte implantation for osteochondral lesion of the talus. *Orthopedics* 2011; 34:356-62.
261. Leong DJ, Hardin JA, Cobelli NJ, Sun HB. Mechanotransduction and cartilage integrity. *Ann NY Acad Sci* 2011; 1240:32-37.
262. LeRoux MA, Arokoski J, Vail TP, Guilak F, Hyttinen MM, Kiviranta I, et al. Simultaneous changes in the mechanical properties, quantitative collagen organization, and proteoglycan concentration of articular cartilage following canine meniscectomy. *J Orthop Res* 2000; 18:383-92.
263. Levine DW, Mondano L, Halpin M. FDA regulatory pathways for knee cartilage repair products. *Sports Med Arthrosc Rev.* 2008; 16:202-7.
264. Li K, Li P, Luo L, Li Y, Xu Y, Zhao Y. [Effect of anterior cruciate ligament rupture on biomechanics of lateral collateral ligament]. *Chin J Rep Reconstr Surg* 2009; 23:287-9.
265. Link TM, Sell CA, Masi JN, Phan C, Newitt D, Lu Y, et al. 3.0 vs 1.5 T MRI in the detection of focal cartilage pathology e ROC analysis in an experimental model. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14:63-70.
266. Little C, Flannery C, Hughes C, Goodship A, Caterson B. Cytokine induced metalloproteinase expression and activity does not correlate with focal susceptibility of articular cartilage to degeneration *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13:162-70
267. Little C, Ghosh P, Rose R. The effect of strenuous versus moderate exercise on the metabolism of proteoglycans in articular cartilage from different weight-bearing regions of the equine third carpal bone. *Osteoarthritis Cartilage* 1997; 5:161-72
268. Little CB, Ghosh P, Bellenger CR. Topographic variation in biglycan and decorin synthesis by articular cartilage in the early stages of osteoarthritis: an experimental study in sheep. *J Orthop Res* 1996;14:433-44.
269. Lohmander LS, Ionescu M, Jugessur H, et al. Changes in joint cartilage aggrecan after knee injury and in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42:534-44.
270. Lohmander LS, Lark MW, Dahlberg L, Walakovits LA, Roos H. Cartilage matrix metabolism in osteoarthritis: markers in synovial fluid, serum, and urine. *Clin Biochem.* 1992; 25:167-74.
271. Lundberg M, Messner K. Ten-year prognosis of isolated and combined medial collateral ligament ruptures: a matched comparison in 40 patients using clinical and radiographic evaluations. *Am J Sports Med* 1997; 25:2-6.
272. Lyalka VF, Orlovsky GN, Deliagina TG. Impairment of postural control in rabbits with extensive spinal lesions. *J Neurophysiol.* 2009; 101:1932-40.
273. Lynch JA, Roemer FW, Nevitt MC, Felson DT, Niu J, Eaton CB, et al. Comparison of BLOKS and WOMBS scoring systems Part I. Cross sectional comparison of methods to assess cartilage morphology, meniscal damage and bone marrow

- lesions on knee MRI: data from the Osteoarthritis Initiative. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:1393-401.
274. Lysholm J, Gillquist J. Evaluation of knee ligament surgery results with special emphasis on use of a scoring scale. *Am J Sports Med* 1982; 10:150-4.
 275. Ma CB, Papageogiou CD, Debski RE, Woo SL. Interaction between the ACL graft and MCL in a combined ACL.MCL knee injury using a goat model. *Acta Orthop Scand* 2000; 71:387-93.
 276. Madry H, van Dijk CN, Müller-Gerbl M. The basic science of the subchondral bone. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18:419-33.
 277. Maffulli N, Binfield PM, King JB. Articular cartilage lesions in the symptomatic anterior cruciate ligamentdeficient knee. *Arthroscopy* 2003; 19:685-90.
 278. Mainil-Varlet P, A.T., Brittberg M, Bullough P, Hollander A, Hunzinker E et al. Histological assessment of cartilage repair. A report by the histology endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg Am*, 2003. 85-A:45-57.
 279. Mainil-Varlet P, Rieser F, Grogan S, Mueller W, Saager C, Jakob RP. Articular cartilage repair using a tissue-engineered cartilage-like implant: an animal study. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9(Suppl A):S6-15.
 280. Mainil-Varlet P, van Damme B, Nesic D, Knutsen G, Kandel R, Roberts S. A new histology scoring system for the assessment of the quality of human cartilage repair: ICRS II. *Am J Sports Med* 2010; 38:880-90.
 281. Mainil-Varlet P, Weiler C, Grogan S, Shaffner T, Frenz M. Quantification of laser-induced cartilage injury by confocal microscopy in an ex vivo model. *J Bone Joint Surg (Am)* 2001; 83-A:566-71.
 282. Major NM, Helms CA. MR imaging of the knee: findings in asymptomatic collegiate basketball players. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179:641-4.
 283. Malghem J, Vande berg BC, Lebon C, Lecouvet FE, Maldague BE. Ganglion cysts of the knee: articular communication revealed by delayed radiography and CT after arthrography. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170:1579-83.
 284. Mankin HJ, Doppelt S, Tomford WW. Clinical experience with allograft implantation: The first ten years. *Clin Orthop Rel Res* 1983; 174:69-86.
 285. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg (Am)* 1971; 53-A:523-37.
 286. Mankin HJ. The response of articular cartilage to injury and osteoarthritis. Part I. *N Engl J Med* 1974; 291:1285-96.
 287. Mansour JM, Wentorf FA, Degoede KM. In vivo kinematics of the rabbit knee in unstable models of osteoarthrosis. *Ann Biomed Eng* 1998; 26:353-60.
 288. Marijnissen AC, Vincken KL, Vos PA, Saris DB, Viergever MA, Bajisma JW, et al. Knee images Digital Analysis (KIDA): a novel method to quantify individual radiographic features of knee osteoarthritis in detail. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:234-43.
 289. Markolf KL, Mensch JS, Amstutz HC. Stiffness and laxity of the knee—the contributions of the supporting structures. A quantitative in vitro study. *J Bone Joint Surg (Am)* 1976; 58-A:583–94.

290. Marlovits S, Singer P, Zeller P, Mandl I, Haller J, Trattnig S. Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (MOCART) for the evaluation of autologous chondrocyte transplantation: determination of interobserver variability and correlation to clinical outcome after 2 years. *Eur J Radiol* 2006; 57:16-23.
291. Marlovits S, Striessnig G, Resinger CT, Aldrian SM, Vecsei V, Imhof H, et al. Definition of pertinent parameters for the evaluation of articular cartilage repair tissue with high-resolution magnetic resonance imaging. *Eur J Radiol* 2004; 52:310-9.
292. Martin JA, Buckwalter J. The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 85-A(suppl 2):106-10.
293. Martin JA, Buckwalter JA. Posttraumatic osteoarthritis: the role of stress induced chondrocyte damage. *Biorheology* 2006; 43:517-21.
294. Martin JA, McCabe D, Walter M, Buckwalter JA, McKinley TO. N-acetylcysteine inhibits post-impact chondrocyte death in osteochondral explants. *J Bone Joint Surg (Am)* 2009; 91-A:1890-7.
295. Martínez de Albornoz P, Forriol F. Modificación del líquido sinovial en diferentes afecciones articulares de la rodilla. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol* 2012; 56:140-8.
296. Masi JN, Sell CA, Phan C, Han E, Newitt D, Steinbach L, Majumdar S, Link TM. Cartilage MR imaging at 3.0 versus that at 1.5 T: preliminary results in a porcine model. *Radiology*. 2005; 236:140-50.
297. Mason JM, Breitbart AS, Barcia M, Porti D, Pergolizzi RG, Grande DA. Cartilage and bone regeneration using gene-enhanced tissue engineering. *Clin Orthop Rel Res* 2000; 379(supl):171-8.
298. McAdam TR, Mithoefer K, Scopp JM, Mandelbaum BR. Articular cartilage injury in athletes. *Cartilage* 2010; 1:165-79.
299. McAlindon TE, Snow S, Cooper C, Dieppe PA. Radiographic patterns of osteoarthritis of the knee joint in the community; the importance of the patellofemoral joint. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:844-9.
300. McDermott AGP, Langer F, Pritzker KPH, Gross AE. Fresh small-fragment osteochondral allografts. Long-Term follow-up study on first 100 cases. *Clin Orthop Rel Res* 1985; 197:96-102.
301. McDevitt C, Gilbertson E, Muir H. An experimental model of osteoarthritis; early morphological and biochemical changes. *J Bone Joint Surg (Br)* 1977; 59-B:24-35.
302. McGibbon CA, Bencardino J, Palmer WE, Yeh E. Accuracy of cartilage and subchondral bone spatial thickness distribution from MRI. *Magn Reson Med* 2003; 17:703-15.
303. McHorney CA, Ware JE Jr, Raczek AE. The MOS 36-Item Short Form Healthy Survey (SF-36): II. Psychometric and clinical tests of validity of measuring physical and mental health constructs. *Med Care* 1993; 31:247-63.
304. McIlwraith CW, Fortier LA, Frisbie DD, Nixon AJ. Equine models of articular cartilage repair. *Cartilage* 2011; 2:317-26.
305. Palanca D, Peña E, Calvo B, Martinez MA, Doblaré M, Seral F. Análisis mediante elementos finitos del efecto de la rotura meniscales y meniscectomias. *Rev Ortop Traumatol* 2004;48:298-303.

306. McNulty AL, Rothfus NE, Leddy HA, Guilak F. Synovial fluid concentrations and relative potency of Interleukin-1 alpha and beta in cartilage and meniscus degradation. *J Orthop Res* 2013; 31:1039-45.
307. Melrose J, Smith S, Ghosh P. Histological and immunohistological studies in cartilage. En: DeCeuninck F, Sabatini M, Patoureau P (eds). *Cartilage and Osteoarthritis*. Vol 2. New Jersey, Humana Press; 2004, pp:39-63.
308. Messner K, Fahlgren A, Persliden J, Andersson BM. Radiographic joint space narrowing and histologic changes in a rabbit meniscectomy model of early knee osteoarthritis. *Am J Sports Med*. 2001; 29:151-60.
309. Meyers MH, Akeson W, Convery FR. Resurfacing of the knee with fresh osteochondral allograft. *J Bone Joint Surg (Am)* 1989; 71-A:704-13.
310. Milentijevic D, Rubel IF, Liew AS, Helfet DL, Torzilli PA. An in vivo rabbit model for cartilage trauma: a preliminary study of the influence of impact stress magnitude on chondrocyte death and matrix damage. *J Orthop Trauma* 2005; 19:466-73.
311. Mitchell N, Shepard N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J Bone Joint Surg (Am)* 1976; 58-A:2230-6.
312. Moojen DJ, Saris DB, Auw Yang KG, Dhert WJ, Verbout AJ. The correlation and reproducibility of histological scoring system in cartilage repair. *Tissue Eng* 2002; 8:627-34.
313. Mora G, Alvarez E, Ripalda P, Forriol F. Articular cartilage degeneration after frozen meniscus and Achilles tendón allograft transplantation: experimental study in sheep. *Arthroscopy* 2003; 19:833-41.
314. Mosher TJ, Dardzinski BJ. Cartilage MRI T2 relaxation time mapping: overview and applications. *Semin Musculoskelet Radiol* 2004; 8:355-68.
315. Mosher TJ, Smith H, Dardzinski BJ, Schmithorst VJ, Smith MB. MR imaging and T2 mapping of femoral cartilage: in vivo determination of magic angle effect. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177:665-9.
316. Mow VC, Wang CC. Some bioengineering considerations for tissue engineering of articular cartilage. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 367(Suppl):S204-23.
317. Müller-Gerbl M. The subchondral bone plate. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 1998;141:1-134.
318. Multanen J, Rauvala E, Lammentausta E, Ojala R, Kiviranta I, Hakkinen A, et al. Reproducibility of imaging human knee cartilage by delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC) at 1.5 Tesla. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:559-64.
319. Munirah S, Samsudin OC, Chen HC, Salmah SH, Aminuddin BS, Ruszymah BH. Articular cartilage restoration in load-bearing osteochondral defects by implantation of autologous chondrocyte-fibrin constructs: an experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg (Br)* 2007; 89-B:1099-109.
320. Murrell GA, Maddali S, Horovitz L, Oakley SP, Warren RF. The effects of time course after anterior cruciate ligament injury in correlation with meniscal and cartilage loss. *Am J Sports Med* 2001; 29:9-14.

321. Nagaosa Y, Mateus M, Hassan B, Lanyon P, Doherty M. Development of a logically devised line drawing atlas for grading of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59:587-95.
322. Vega Álvarez, J. A.; García-Suárez, O.; Fernández Monjil, D., Y Del Valle Soto, M. E. Bioquímica y Biología del Cartilago Articular. *Rev Ortop Traumatol* 2002;5:391-400
323. Nettles DL, Kitaoka K, Hanson NA, Flahiff CM, Mata BA, Hsu EW, et al. In situ crosslinking elastin-like polypeptide gels for application to articular cartilage repair in a goat osteochondral defect model. *Tissue Eng Part A* 2008; 14:1133-40.
324. Newberry WN, Garcia JJ, Mackenzie CD, Decamp CE, Haut RC. Analysis of acute mechanical insult in an animal model of post-traumatic osteoarthrosis. *J Biomech Eng*. 1998; 120:704-9.
325. Newberry WN, Mackenzie CD, Haut RC. Blunt impact causes changes in bone and cartilage in a regularly exercised animal model. *J Orthop Res* 1998; 16:348-54.
326. Niederauer GG, Slivka MA, Leatherbury NC, Korvick DL, Harroff HH, Ehler WC, et al. Evaluation of multiphase implants for repair of focal osteochondral defects in goats. *Biomaterials* 2000; 21:2561-74.
327. Nikolaou VS, Chronopoulos E, Savvidou C, et al. MRI efficacy in diagnosing internal lesions of the knee: a retrospective analysis. *J Trauma Manag Outcomes* 2008; 2:4.
328. Nishimura K, Tanabe T, Kimura M, Harasawa A, Karita K, Matsushita T. Measurement of articular cartilage volumes in the normal knee by magnetic resonance imaging: can cartilage volumes be estimated from physical characteristics? *J Orthop Sci* 2005; 10:246-52.
329. Nishimuta JF, Levenston ME. Response of cartilage and meniscus tissue explants to in vitro compressive overload. *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20:422-9.
330. Noyes F, Bassett R, Grood E, Butler DL. Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee: incidence of anterior cruciate tears and other injuries. *J Bone Joint Surg (Am)* 1980; 62-A:687-95.
331. Noyes FR, B.S., Mooar LA, A rationale for assessing sports activity levels and limitations in knee disorders. *Clin Orthop Rel Res* 1989. 246:238-49.
332. Nuki G. [Osteoarthritis: a problem of joint failure]. *Z Rheumatol* 1999; 58:142-7.
333. O'Connor DP, Laughlin MS, Woods GW. Factors related to additional knee injuries after anterior cruciate ligament injury. *Arthroscopy* 2005; 21:431-8.
334. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg (Am)* 1986; 68-A:1017-35.
335. O'Driscoll SW, Marx RG, Beaton DE, Miura Y, Gallay SH, Fitzsimmons JS. Validation of a simple histological-histochemical cartilage scoring system. *Tissue Eng* 2001; 7:313-20.
336. O'Driscoll SW, Marx RG, Fitzsimmons JS, Beaton DE. Method for automated cartilage histomorphometry. *Tissue Eng* 1999; 5:13-23.
337. O'Reilly SC, Muir KR, Doherty M. Effectiveness of home exercise on pain and disability from osteoarthritis of the knee: a randomised controlled trial. *Ann*

- Rheum Dis 1999; 58:15-9.
338. Oakley SP, Lassere MN, Portek I, Szomor Z, Ghosh P, Kirkham BW, et al. Bio-mechanical, histologic and macroscopic assessment of articular cartilage in a sheep model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12:667-79.
 339. Oiestad BE, Holm I, Aune AK, et al. Knee function and prevalence of knee osteoarthritis after anterior cruciate ligament reconstruction: a prospective study with 10 – 15 years of follow-up. *Am J Sports Med* 2010; 38:2201-10.
 340. Olson SA, Connolly EA, Smith S, Hamel AJ, Sharkey NA, Bay BK. Development of an animal model of acetabular fractures. *Clin Orthop Rel Res* 2004; 423:64-73.
 341. Omoumi P, de Gheldere A, Leemrijse T, Galant C, Van den Bergh P, Malghem J, et al. Value of computed tomography arthrography with delayed acquisitions in the work-up of ganglion cysts of the tarsal tunnel: report of three cases. *Skeletal Radiol* 2010; 39:381-6.
 342. Orth P, Zurakowski D, Alini M, Cucchiari M, Madry H. Reduction of sample size requirements by bilateral versus unilateral research designs in animal models for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part C Methods* 2013; 19:885-91
 343. Ostergaard K, Andersen CB, Petersen J, Bendtzen K, Salter DM. Validity of histopathological grading of articular cartilage from osteoarthritic knee joints. *Ann Rheum Dis* 1999; 58:208-13.
 344. Ostergaard K, Petersen J, Andersen CB, Bendtzen K, Salter DM. Histologic/histochemical grading system for osteoarthritic articular cartilage: reproducibility and validity. *Arthritis Rheum* 1997; 40:1766-71.
 345. Osterhoff G, Löffler S, Steinke H, Feja C, Josten C, Hepp P. Comparative anatomical measurements of osseous structures in the ovine and human knee. *Knee* 2011; 18:98-103.
 346. Otte P. The nature of coxarthrosis and principles of its management. *Dtsch Med J* 1969; 20:341-6.
 347. Outerbridge RE. Further studies on the etiology of chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg (Br)* 1964; 46-B:179-90.
 348. Pallante AL, Chen AC, Ball ST, Amiel D, Masuda K, Sah RL, Bugbee WD. The in vivo performance of osteochondral allografts in the goat is diminished with extended storage and decreased cartilage cellularity. *Am J Sports Med* 2012; 40:1814-23.
 349. Panula HE, Nieminen J, Parkkinen JJ, Arnala I, Kroger H, Alhava E. Subchondral bone remodeling increases in early experimental osteoarthrosis in young beagle dogs. *Acta Orthop Scand* 1998; 69:627-32.
 350. Pascual Garrido C, Hakimiyan AA, Rappoport L, Oegema TR, Wimmer MA, Chubinskaya S. Anti-apoptotic treatments prevent cartilage degradation after acute trauma to human ankle cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:1244-51.
 351. Pauli C, Whiteside R, Heras FL, Nesic D, Koziol J, Grogan SP, et al. Comparison of cartilage histopathology assessment systems on human knee joints at all stages of osteoarthritis development. *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20:476-85.
 352. Pearson RG, Kurien T, Shu KS, Scammell BE. Histopathology grading systems for characterisation of human knee osteoarthritis: reproducibility, variability, reliability, correlation, and validity. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19:324-31.

353. Peterfy C, Li J, Zaim S, Duryea J, Lynch J, Miaux Y, et al. Comparison of fixed-flexion positioning with fluoroscopic semi-flexed positioning for quantifying radiographic joint-space width in the knee: test-retest reproducibility. *Skeletal Radiol* 2003; 32:128-32.
354. Peterfy CG, Guermazi A, Zaim S, Tirman PF, Miaux Y, White D, et al. Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12:177-90.
355. Peterfy CG. Imaging of the disease process. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14:590-6.
356. Peterfy CG. Scratching the surface: articular cartilage disorders in the knee. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2000; 8:409-30.
357. Petersen W, Laprell H. Combined injuries of the medial collateral ligament and the anterior cruciate ligament. *Arch Orthop Trauma Surg* 1999; 119:258-62.
358. Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Jansson E, Lindahl A. Two to nine year outcomes after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop Rel Res* 2000. 374:212-34.
359. Phan CM, Link TM, Blumenkrantz G, Dunn TC, Ries MD, Steinbach LS, et al. MR imaging findings in the follow-up of patients with different stages of knee osteoarthritis and the correlation with clinical symptoms. *Eur Radiol* 2006;16:608-18.
360. Pilliar RM, Kandel RA, Gryn timer MD, Zalzal P, Hurtig M. Osteochondral defect repair using a novel tissue engineering approach: sheep model study. *Technol Health Care* 2007; 15:47-56.
361. Poole CA, Ayad S, Gilbert RT. Chondrons from articular cartilage (V). Immunohistochemical evaluation of type VI collagen organization in isolated chondrons by light, confocal and electron microscopy. *J Cell Science* 1992; 103:1101-10.
362. Poole CA, Ayad S, Schofield JR. Chondrons from articular cartilage (I). Immunolocalisation of type VI collagen in the pericellular capsule of isolated canine chondrons. *J Cell Science* 1988; 90:635-45.
363. Pratta MA, Yao W, Decicco C, Tortorella MD, Liu RQ, Copeland RA, et al. Aggrecan protects cartilage collagen from proteolytic cleavage. *J Biol Chem* 2003; 278:45539-45.
364. Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA, et al. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14:13-29.
365. Pruksakorn D, Rojanasthien S, Pothachaoren P, Luevitoonvechkij S, Wongtreatanachai P, Ong-Chai S, et al. Chondroitin sulfate epitope (WF6) and hyaluronic acid as serum markers of cartilage degeneration after in patients following anterior cruciate ligament injury. *J Sci Med Sport* 2009; 12:445-8.
366. Radin EL, Paul IL. Does cartilage compliance reduce skeletal impact loads? The relative force-attenuating properties of articular cartilage, synovial fluid, periarticular soft tissues and bone. *Arthritis Rheum* 1970; 13:139-44.
367. Radin EL, Rose RM. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 213:34-40.

368. Rahfoth B, Weisser J, Sternkopf F, Aigner T, von der Mark K, Brauer R. Transplantation of allograft chondrocytes embedded in agarose gel into cartilage defects of rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 1998; 6:50-65.
369. Ramakrishnan P, Hecht BA, Pedersen DR, Lavery MR, Maynard J, Buckwalter JA, et al. Oxidant conditioning protects cartilage from mechanically induced damage. *J Orthop Res* 2010; 28:914-20.
370. Ramdhian-Wihlm R, Le Minor JM, Schmittbuhl M, et al. Cone-beam computed tomography arthrography: an innovative modality for the evaluation of wrist ligament and cartilage injuries. *Skeletal Radiol* 2012; 41:963-9.
371. Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Berthiaume MJ, Abram F, Choquette D, Haraoui B, et al. Correlation between bone lesion changes and cartilage volume loss in patients with osteoarthritis of the knee as assessed by quantitative magnetic resonance imaging over a 24-month period. *Ann Rheum Dis* 2008; 67:683-8.
372. Recht MP, Goodwin DW, Winalski CS, White LM. MRI of articular cartilage: revisiting current status and future directions. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 185:899-914.
373. Recht MP, Kramer J, Marcelis S, Pathria MN, Trudell D, Haghighi P, et al. Abnormalities of articular cartilage in the knee: analysis of available MR techniques. *Radiology* 1993; 187:473-8.
374. Recht MP, Piraino DW, Paletta GA, Schils JP, Belhobek GH. Accuracy of fat-suppressed three-dimensional spoiled gradient-echo FLASH MR imaging in the detection of patellofemoral articular cartilage abnormalities. *Radiology* 1996; 198:209-12.
375. Richardson DW, Dodge GR. Effects of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha on expression of matrix-related genes by cultured equine articular chondrocytes. *Am J Vet Res*. 2000; 61:624-30.
376. Riddle WE Jr. Healing of articular cartilage in the horse. *J Am Vet Med Assoc* 1970; 157:1471-9.
377. Riemer S, Gebhard S, Beier F, Pöschl E, von der Mark K. Role of c-fos in the regulation of type X collagen gene expression by PTH and PTHrP: localization of a PTH/PTHrP-responsive region in the human COL10A1 enhancer. *J Cell Biochem*. 2002; 86:688-99.
378. Roberts S, McCall IW, Darby AJ, Menage J, Evans H, Harrison PE, et al. Autologous chondrocyte implantation for cartilage repair: monitoring its success by magnetic resonance imaging and histology. *Arthritis Res Ther* 2003; 5:R60-73.
379. Roemer FW, Guermazi A, Javadi MK, Lynch JA, Niu J, Zhang Y, Felson DT, Lewis CE, Torner J, Nevitt MC; MOST Study investigators. Change in MRI-detected subchondral bone marrow lesions is associated with cartilage loss: the MOST Study. A longitudinal multicentre study of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009; 68:1461-5.
380. Roemer FW, Guermazi A, Lynch JA, Peterfy CG, Nevitt MC, Webb N, et al. Short tau inversion recovery and proton density-weighted fat suppressed sequences for the evaluation of osteoarthritis of the knee with a 1.0 T dedicated extremity MRI: development of a time-efficient sequence protocol. *Eur Radiol* 2005; 15:978-87.
381. Roos EM, Dahlberg L. Positive effects of moderate exercise on glycosaminogly-

- can content in knee cartilage: a four-month, randomized, controlled trial in patients at risk of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:3507-14.
382. Roos EM, Lohmander LS. The Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS): from joint injury to osteoarthritis. *Health Qual Life Outcomes* 2003; 1:64.
 383. Roos EM, Roos HP, Ekdahl C, Lohmander LS. Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) - validation of a Swedish version. *Scand J Med Sci Sports* 1998; 8:439-45.
 384. Rorvik AM, Teige J. Unstable stifles without clinical or radiographic osteoarthritis in young goats: an experimental study. *Acta Vet Scand* 1996; 37:265-72.
 385. Rosenberg L. Chemical basis for the histological use of safranin O in the study of articular cartilage. *J Bone Joint Surg (Am)* 1971; 53-A:69-82.
 386. Ross KA, Williams RM, Schnabel LV, Mohammed HO, Potter HG, Bradica G, et al. Comparison of three methods to quantify repair cartilage collagen orientation. *Cartilage* 2013; 4:111-20.
 387. Rout R, McDonnell S, Benson R, Athanasou N, Carr A, Doll H, et al. The histological features of anteromedial gonarthrosis: the comparison of two grading systems in a human phenotype of osteoarthritis. *Knee* 2011; 18:172-6.
 388. Rundell SA, Baars DC, Phillips DM, Haut RC. The limitation of acute necrosis in retro-patellar cartilage after severe blunt impact to the in-vivo rabbit patello-femoral joint. *J Orthop Res* 2005; 23:1363-9.
 389. Rutgers M, van Pelt MJP, Dhert WJA, Creemers LB, Saris DBF. Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered, repaired and osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18:12-23.
 390. Saal A, Gaertner J, Kuehling M, Swoboda B, Klug S. Macroscopic and radiological grading of osteoarthritis correlates inadequately with cartilage height and histologically demonstrable damage to cartilage structure. *Rheumatol Int* 2005; 25:161-8.
 391. Sakane M, Livesay GA, Fox RJ, Rudy TW, Runco TJ, Woo SL. Relative contribution of the ACL, MCL, and bony contact to the anterior stability of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1999; 7:93-7.
 392. Saris DB, Vanlauwe J, Victor J, Almqvist KF, Verdonk R, Bellemans J, et al. Treatment of symptomatic cartilage defects of the knee: characterized chondrocyte implantation results in better clinical outcome at 36 months in a randomized trial compared to microfracture. *Am J Sports Med* 2009; 37(suppl)10-9.
 393. Sauter E, Buckwalter JA, McKinley TO, Martin JA. Cytoskeletal dissolution blocks oxidant release and cell death in injured cartilage. *J Orthop Res* 2012; 30:593-8.
 394. Saxne T, Heinegard D, Wollheim FA. Therapeutic effects on cartilage metabolism in arthritis as measured by release of proteoglycan structures into the synovial fluid. *Ann Rheum Dis* 1986; 45:491-7.
 395. Scherer MA, Metak G, Haas B, Hammerschmid E, von Gumpfenberg S. Glycosaminoglycans as markers of posttraumatic gonarthrosis? *Chirurg* 1998; 69:82-90.
 396. Schmidt JE, Amrami KK, Manduca A, Kaufman KR. Semiautomated digital image analysis of joint space width in knee radiographs. *Skeletal Radiol* 2005; 34:639-45.

397. Schreiber RE, Ilten-Kirby BM, Dunkelman NS, Symons KT, Rekettye LM, Willoughby J, et al. Repair of osteochondral defects with allogeneic tissue engineered cartilage implants. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 367:382-95.
398. Seedhom BB, Hargreaves DJ. Transmission of the load in the knee joint with special reference to the role of the menisci. I. Anatomy, analysis and apparatus. *Eng Med* 1979; 8:207-19.
399. Seifer DR, Furman BD, Guilak F, Olson SA, Brooks SC 3rd, Kraus VB. Novel synovial fluid recovery method allows for quantification of a marker of arthritis in mice. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:1532-8.
400. Sgaglione NA, Miniaci A, Gillogly SD, Carter TR. Update on advanced surgical techniques in the treatment of traumatic focal articular cartilage lesions in the knee. *Arthroscopy* 2002; 18(2 Suppl 1):9-32.
401. Shamis LD, Bramlage LR, Gabel AA, Weisbrode S. Effects of subchondral drilling on repair of partial thickness cartilage defects of third carpal bones in horses. *Am J Vet Res* 1989; 50:290-5.
402. Shapiro EM, Borthakur A, Gougoutas A, Reddy R. ²³Na MRI accurately measures fixed charge density in articular cartilage. *Magn Reson Med* 2002; 47:284-91.
403. Shelbourne KD, Jari S, Gray T. Outcome of untreated traumatic articular cartilage defects of the knee. A natural history study. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 85-A(suppl 2):8-16.
404. Shelburne KB, Pandy MG, Torry MR. Comparison of shear forces and ligament loading in the healthy and ACLdeficient knee during gait. *J Biomech* 2004; 37:313-9.
405. Shinmei M, Ito K, Matsuyama S, Yoshihara Y, Matsuzawa K. Joint fluid carboxy-terminal type II procollagen peptide as a marker of cartilage collagen biosynthesis. *Osteoarthritis Cartilage*. 1993; 1:121-8.
406. Siebelt M, van Tiel J, Waarsing JH, Pijlsma TM, van Straten M, Booij R, et al. Clinically applied CT arthrography to measure the sulphated glycosaminoglycan content of cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19:1183-9.
407. Siedek V, Glaser C, Englmeier KH, Reiser M, Eckstein F. MRI-based analysis of knee and ankle cartilage in monozygotic twins suggests that its morphology is strongly determined by genetics (Abstract). *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10(Suppl A):S56.
408. Silvest TS, Jurvelin JS, Aula AS, Lammi MJ, Töyräs J. Contrast agent-enhanced computed tomography of articular cartilage: association with tissue composition and properties. *Acta Radiol* 2009; 50:78-85.
409. Silvest TS, Jurvelin JS, Lammi MJ, Töyräs J. pQCT study on diffusion and equilibrium distribution of iodinated anionic contrast agent in human articular cartilage—associations to matrix composition and integrity. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:26-32.
410. Silvest TS, Kokkonen HT, Jurvelin JS, Quinn TM, Nieminen MT, Töyräs J. Diffusion and near-equilibrium distribution of MRI and CT contrast agents in articular cartilage. *Phys Med Biol* 2009; 54:6823-36.
411. Simpson D, Bellenger C, Ghosh P, Numata Y, Little C. The effect of total meniscectomy versus caudal pole hemimeniscectomy on the stiff joint of the sheep. *Vet*

- Comp Orthop Traumatol 1999; 12:56-63.
412. Sirlin CB, Boutin RD, Brossmann J, Pathria MN, Convery FR, Bugbee W, Resnick D. Polydioxanone biodegradable pins in the knee: MR imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 2001; 176:83-90.
 413. Smith GD, Taylor J, Almqvist KF, Erggelet C, Knutsen G, Garcia Portabella M, et al. Arthroscopic assessment of cartilage repair: a validation study of 2 scoring systems. *Arthroscopy* 2005; 21:1462-7.
 414. Smith M, Ghosh P. Experimental models of osteoarthritis. En: Moskowitz RW, Howell DS, Altman RD, Buckwalter JA, Goldberg VM, Eds. *Osteoarthritis. Diagnosis and Medical/Surgical Management.* Philadelphia, London, New York, St. Louis, Sydney, Toronto: WB Saunders 2001:171–99.
 415. Smith TO, Drew BT, Toms AP, Donell ST, Hing CB. Accuracy of magnetic resonance imaging, magnetic resonance arthrography and computed tomography for the detection of chondral lesions of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012; 20:2367-79.
 416. Song SU, Cha YD, Han JU, Oh IS, Choi KB, Yi Y, et al. Hyaline cartilage regeneration using mixed human chondrocytes and transforming growth factor-beta1-producing chondrocytes. *Tissue Eng* 2005; 11:1516-26.
 417. Song SY, Han YD, Hong SY, Kim K, Yang SS, Min BH, Yoon HC. Chip-based cartilage oligomeric matrix protein detection in serum and synovial fluid for osteoarthritis diagnosis. *Anal Biochem.* 2012; 420:139-46.
 418. Spector TD, Cooper C. Radiographic assessment of osteoarthritis: whither Kellgren and Lawrence? *Osteoarthritis Cartilage* 1993;1:203–6.
 419. Stoop R, Buma P, van der Kraan PM, Hollander AP, Billingham RC, Meijers TH, et al. Type II collagen degradation in articular cartilage fibrillation after anterior cruciate ligament transection in rats. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9:308-15
 420. Tapper JE, Funakoshi Y, Hariu M, Marchuk L, Thornton GM, Ronsky JL, et al. ACL/MCL transection affects knee ligament insertion distance of healing and intact ligaments during gait. *J Biomech* 2009; 42:1825-33.
 421. Tegner Y, Lysholm J. Rating systems in the evaluation of knee ligament injuries. *Clin Orthop Rel Res* 1985; 198:43-9.
 422. Tetta C, Busacca M, Moio A, Rinaldi R, Delcogliano M, Kon E, et al. Knee osteochondral autologous transplantation: long-term MR findings and clinical correlations. *Eur J Radiol* 2010; 76:117-23.
 423. Thomas CM, Fuller CJ, Whittles CE, Sharif M. Chondrocyte death by apoptosis is associated with cartilage matrix degradation. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:27-34.
 424. Thompson WO, Fu FH. The meniscus in the cruciate deficient knee. *Clin Sports Med* 1993; 12:771-96.
 425. Thonar EJ, Masuda K, Lenz ME, Hauselmann HJ, Kuettner KE, Manicourt DH. Serum markers of systemic disease processes in osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl.* 1995; 43:68-70.
 426. Tiderius CJ, Olsson LE, Nyquist F, Dahlberg L. Cartilage glycosaminoglycan loss in the acute phase after an anterior cruciate ligament injury: delayed gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging of cartilage and sinovial fluid analysis. *Arthritis Rheum* 2005; 52:120-7.

427. Tochigi Y, Vaseenon T, Heiner AD, Fredericks DC, Martin JA, Rudert MJ, et al. Instability dependency of osteoarthritis development in a rabbit model of graded anterior cruciate ligament transection. *J Bone Joint Surg (Am)* 2011; 93-A:640-7.
428. Trattinig S, Domayer S, Welsch GW, Mosher T, Eckstein F. MR imaging of cartilage and its repair in the knee. A review. *Eur Radiol* 2009; 19:1582-94.
429. Treppo S, Koepp H, Quan EC, Cole AA, Kuettner KE, Grodzinsky AJ. Comparison of biomechanical and biochemical properties of cartilage from human knee and ankle pairs. *J Orthop Res* 2000; 18:739-48.
430. Trumble TE, Culp RW, Hanel DP, et al. Intra-articular fractures of the distal aspect of the radius. *Instr Course Lect* 1999; 48:465-80.
431. Turner AS, Athanasiou KA, Zhu CF, Alvis MR, Bryant HU. Biochemical effects of estrogen on articular cartilage in ovariectomized sheep. *Osteoarthritis Cartilage* 1997; 5:63-9.
432. Tytherleigh-Strong G, Hurtig M, Miniaci A. Intra-articular hyaluronan following autogenous osteochondral grafting of the knee. *Arthroscopy* 2005; 21:999-1005.
433. Uhl M, Lahm A, Bley TA, Haberstroh J, Mrosek E, Ghanem N, et al. Experimental autologous osteochondral plug transfer in the treatment of focal chondral defects: magnetic resonance imaging signs of technical success in sheep. *Acta Radiol* 2005; 46:875-80.
434. Urish KL, Williams AA, Durkin JR, Chu CR; the OAI Investigators Group. Registration of Magnetic Resonance Image Series for Knee Articular Cartilage Analysis: Data from the Osteoarthritis Initiative. *Cartilage*. 2013; 4:20-7.
435. US Food and Drug Administration. Guidance for industry: Preparation of IDEs and INDs for products intended to repair or replace knee cartilage. Rockville, MD: US Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research; 2007.
436. Vachon AM, McIlwraith CW, Keeley FW. Biochemical study of repair of induced osteochondral defects of the distal portion of the radial carpal bone in horses by use of periosteal autografts. *Am J Vet Res* 1991; 52:328-32.
437. Van de Velde SK, DeFrate LE, Gill TJ, et al. The effect of anterior cruciate ligament deficiency on the in vivo elongation of the medial and lateral collateral ligaments. *Am J Sports Med* 2007; 35:294-300.
438. van den Berg WB, van de Loo F, Joosten LA, Arntz OJ. Animal models of arthritis in NOS2-deficient mice. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999; 7:413-5.
439. Van den Borne MP, Raijmakers NJ, Vanlauwe J, Victor J, de Jong SN, Bellemans J, et al. International Cartilage Repair Society (ICRS) and Oswestry macroscopic cartilage evaluation scores validated for use in autologous chondrocyte implantation (ACI) and microfracture. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15:1397-402.
440. Van der Sluijs JA, Geesink RG, van der Linden AJ, Bulstra SK, Kuyper R, Drukker J. The reliability of the Mankin score for osteoarthritis. *J Orthop Res* 1992; 10:58-61.
441. van Susante JL, Buma P, Schuman L, Homminga GN, van den Berg WB, Veth RP. Resurfacing potential of heterologous chondrocytes suspended in fibrin glue in large full-thickness defects of femoral articular cartilage: an experimental study in the goat. *Biomaterials* 1999; 20:1167-75.
442. van Tiel J, Siebelt M, Waarsing JH, Piscoer TM, van Straten M, Booij R, et al. CT

- arthrography of the human knee to measure cartilage quality with low radiation dose. *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20:678-85.
443. Vanwanseele B, Eckstein F, Knecht H, Spaepen A, Stussi E. Longitudinal analysis of cartilage atrophy in the knees of patients with spinal cord injury. *Arthritis Rheum* 2003; 48:3377-81.
 444. Vaquero J, Forriol F. Knee chondral injuries: clinical treatment strategies and experimental models. *Injury* 2012; 43:694-705.
 445. Vaquero J, Longo UG, Forriol F, Martinelli N, Vethencourt R, Denaro V. Reliability, validity and responsiveness of the Spanish version of the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) in patients with chondral lesion of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2014; 22:104-8.
 446. Verma P, Dalal K. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in knee osteoarthritis: a novel diagnostic and prognostic biomarker. *J Orthop Res* 2013; 31:999-1006.
 447. Vignon E, Conrozier T, Piperno M, Richard S, Carrillon Y, Fantino O. Radiographic assessment of hip and knee osteoarthritis. Recommendations: recommended guidelines. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7:434-6.
 448. Vlychou M, Hantes M, Michalitsis S, Tsezou A, Fezoulidis IV, Malizos K. Chronic anterior cruciate ligament tears and associated meniscal and traumatic cartilage lesions: evaluation with morphological sequences at 3T. *Skeletal Radiol* 2011; 40:709-16.
 449. Voloshin AS, Wosk J. Shock absorption of meniscectomized and painful knees: a comparative in vivo study. *J Biomed Eng* 1983; 5:157-61.
 450. von Porat A, Henriksson M, Holmstrom E, Roos EM. Knee kinematics and kinetics during gait, step and hop in males with a 16 years old ACL injury compared with matched controls. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; 14:546-54.
 451. Vrahas MS, Smith GA, Rosler DM, Baratta RV. Method to impact in vivo rabbit femoral cartilage with blows of quantifiable stress. *J Orthop Res* 1997; 15:314-7.
 452. Wada M, Baba H, Imura S, Morita A, Kusaka Y. Relationship between radiographic classification and arthroscopic findings of articular cartilage lesions in osteoarthritis of the knee. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16:15-20.
 453. Wakitani S, Nawata M, Kawaguchi A, Okabe T, Takaoka K, Tsuchiya T, et al. Serum keratan sulfate is a promising marker of early articular cartilage breakdown. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46:1652-6.
 454. Walker GD, Fischer M, Gannon J, Thompson RC, Oegema TR. Expression of type-X collagen in osteoarthritis. *J Orthop Res* 1995; 13:4-12.
 455. Ward BD, Furman BD, Huebner JL, Kraus VB, Guilak F, Olson SA. Absence of posttraumatic arthritis following intraarticular fracture in the MRL/MpJ mouse. *Arthritis Rheum.* 2008; 58:744-53.
 456. Watanabe A, Boesch C, Anderson SE, Walter B, Mainil Varlet P. Ability of dGEMRIC and T2 mapping to evaluate cartilage repair after microfracture: a goat study. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:1341-9.
 457. Wei X, Messner K. Maturation-dependent durability of spontaneous cartilage repair in rabbit knee joint. *J Biomed Mater Res* 1999; 46:539-48.
 458. Weigel DP, Marsh JL. High-energy fractures of the tibial plateau. Knee function after longer follow-up. *J Bone Joint Surg (Am)* 2002; 84-A:1541-51.

459. Westacott CI, Sharif M. Citokynes in Osteoarthritis: mediators or markers of joint destruction? *Sem Arthritis Reum* 1996; 25:254-72.
460. Williams JM, Felten DL, Peterson RG, O'Connor BL. Effects of surgically induced instability on rat knee articular cartilage. *J Anat* 1982; 134:103-9.
461. Williams RJ 3rd, Ranawat AS, Potter HG, Carter T, Warren RF. Fresh stored allografts for the treatment of osteochondral defects of the knee. *J Bone Joint Surg (Am)* 2007; 89-A:718-26.
462. Wirth W, Benichou O, Kwok CK, Guermazi A, Hunter D, Putz R, et al. Spatial patterns of cartilage loss in the medial femoral condyle in osteoarthritic knees: data from the osteoarthritis initiative. *Magn Reson Med* 2010; 63:574-81.
463. Wirth W, Hellio Le Graverand MP, Wyman BT, Maschek S, Hudelmaier M, Hitzl W, et al. Regional analysis of femorotibial cartilage loss in a subsample from the Osteoarthritis Initiative progression subcohort. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:291-7.
464. Wluka AE, Davis SR, Bailey M, Stuckey SL, Cicuttini FM. Users of oestrogen replacement therapy have more knee cartilage than non-users. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:332-6.
465. Wolfe F, Lane NE, Buckland-Wright C. Radiographic methods in knee osteoarthritis: a further comparison of semiflexed (MTP), Schuss-Tunnel, and weightbearing anteroposterior views for joint space narrowing and osteophytes. *J Rheumatol* 2002; 29: 2597-601.
466. Woo SL, Debski RE, Withrow JD, Janaushek MA. Biomechanics of knee ligaments. *Am J Sports Med* 1999; 27:533-43.
467. Xia Y, Zheng S, Bidthanapally A. Depth-dependent profiles of glycosaminoglycans in articular cartilage by microMRI and histochemistry. *J Magn Reson Imaging* 2008; 28:151-7.
468. Yagi R, McBurney D, Alberti D, Weiner S, Horton Jr W. Intrajoint comparisons of gene expression patterns in human osteoarthritis suggest a change in chondrocyte phenotype. *J Orthop Res* 2005; 23:1128-38.
469. Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Zhang X, et al. Effects of exercise level on biomarkers in a rat knee model of osteoarthritis. *J Orthop Res* 2013; 31:1026-31.
470. Yoshioka H, Stevens K, Hargreaves BA, Steines D, Genovese M, Dillingham MF, et al. Magnetic resonance imaging of articular cartilage of the knee: comparison between fat-suppressed three-dimensional SPGR imaging, fat-suppressed FSE imaging, and fat-suppressed three-dimensional DEFT imaging, and correlation with arthroscopy. *J Magn Reson Imaging* 2004; 20:857-64.
471. Young A, McLennan S, Smith M, Smith S, Cake M, Read R, et al. Decreased expression of PRG4 (lubricin) in an animal model of early osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:41-6.
472. Young AA, Appleyard RC, Smith MM, Melrose J, Little CB. Dynamic biomechanics correlate with histopathology in human tibial cartilage: a preliminary study. *Clin Orthop Relat Res* 2007; 462:212-20.
473. Young AA, Stanwell P, Williams A, Rohrsheim JA, Parker DA, Giuffre B, et al. Glycosaminoglycan content of knee cartilage following posterior cruciate ligament rupture demonstrated by delayed gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging.

- ing of cartilage (dGEMRIC): a case report. *J Bone Joint Surg (Am)* 2005; 87-A:2763-7.
474. Yu JS, Cook PA. Magnetic resonance imaging (MRI) of the knee: a pattern approach for evaluating bone marrow edema. *Crit Rev Diagn Imaging* 1996; 37:261-303.
475. Zamber RW, Teitz CC, McGuire DA, Frost JD, Hermanson BK. Articular cartilage lesions of the knee. *Arthroscopy* 1989; 5:258-68.
476. Zanetti M, Bruder E, Romero J, Hodler J. Bone marrow edema pattern in osteoarthritic knees: correlation between MR imaging and histologic findings. *Radiology* 2000; 215:835-40.
477. Zhang H, Vrahas MS, Baratta RV, Rosler DM. Damage to rabbit femoral articular cartilage following direct impacts of uniform stresses: an in vitro study. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 1999; 14:543-8.

ANEXO I

Resultados Histológicos

OVEJA 1**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

0

0

OVEJA 1

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

0

0

OVEJA 2**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

0 0

OVEJA 2

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

CMF MTM

Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

0

OVEJA 3**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

0 0

OVEJA 3

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

CMF MTM

Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

0

OVEJA 4**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

0 0

OVEJA 4

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

0

0

OVEJA 5**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

9

9

OVEJA 5

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

3

3

OVEJA 6**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipocelularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		
Total		6	2

OVEJA 6

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

6

0

OVEJA 7**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipocelularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

7

12

OVEJA 7

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: desnudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie desnudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

1

5

OVEJA 8**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipocelularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

10

14

OVEJA 8

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: desnudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie desnudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

4

5

OVEJA 9**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

6

7

OVEJA 9

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

3

1

OVEJA 10**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipocelularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

14

8

OVEJA 10

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		5	2

OVEJA 11**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

12

14

OVEJA 11

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		4	6

OVEJA 12**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

13

12

OVEJA 12

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		5	5

OVEJA 13**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

8

11

OVEJA 13

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		3	4

OVEJA 14**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		
Total		12	11

OVEJA 14

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		4	4

OVEJA 15**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		
Total		10	11

OVEJA 15**Escala de valoración OARSI**

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		4	4

OVEJA 16**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la “tidemark”			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total**10****13**

OVEJA 16

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		3	3

OVEJA 17**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-O			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total**-****12**

OVEJA 17

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		-	3

OVEJA 18**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total

8

8

OVEJA 18

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

CMF MTM

Grado	Criterios asociados (reacción tisular)	CMF	MTM
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

2

3

OVEJA 19**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la “tidemark”			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total**10****14**

OVEJA 19

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

		CMF	MTM
Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: desnudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie desnudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		

Total

3

6

OVEJA 20**Escala de Mankin**

Cóndilo medial fémur (CMF)

Meseta tibial medial (MTM)

CMF**MTM**

1. estructura			
Normal	0		
Irregularidades superficie	1		
Pannus e irregularidades superficie	2		
Hendiduras en zona de transición	3		
Hendiduras en la zona radial	4		
Hendiduras en la zona calcificada	5		
Desorganización completa	6		
2. Células			
Normales	0		
Hiper celularidad difusa	1		
Clones	2		
Hipo celularidad	3		
3. Tinción con Safranina-0			
Normal	0		
Poca reducción	1		
Moderada reducción	2		
Grave reducción	3		
No se observa tinción	4		
4. Integridad de la "tidemark"			
Intacta	0		
Atraviesan vasos	1		

Total**10****14**

OVEJA 20

Escala de valoración OARSI

Cóndilo medial fémur (CMF)
medial (MTM)

Cóndilo lateral fémur (CLF) Meseta tibial
Meseta tibial lateral (MTL)

CMF
MTM

Grado	Criterios asociados (reacción tisular)		
Grado 0: superficie intacta, morfología cartílago intacta	Matriz: arquitectura normal Células: intactas, orientación adecuada		
Grado 1: superficie intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema ± fibrilación superficial (abrasión), condensación focal superficial Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia, zona superficial Reacción (fibrilación) puede ser algo más profunda		
Grado 2: discontinuidad en superficie	Como Grado 1: + interrupción matriz (fibrilación profunda), ± tinción matriz con depleción catiónica (Safranina= o Toluidina azul) en más de 1/3 del cartílago, ± aumento de la tinción focal pericondral (zona media), ± desorientación de las condronas en columnas Células: muerte, proliferación (clusters), hipertrofia		
Grado 3: fisuras verticales (hendiduras)	Como arriba Fisuras verticales en la matriz en la zona media, fisuras ramificadas, ± depleción catiónica (safranina 0 o Toluidina azul) en 2/3 inferiores (zona profunda), ± formación de colágeno (luz polarizada, tinción rojo picosirius) Células: muerte, regeneración (clusters), hipertrofia, fisuras en zonas cercanas del cartílago		
Grado 4: erosión	Pérdida matriz cartílago: delaminación capa superficial, formación quistes en capa media. Excavación: pérdida matriz en capa superficial y en zona media		
Grado 5: denudación	Superficie: hueso esclerótico o tejido reparación incluyendo fibro-cartílago con superficie denudada. Microfractura con reparación limitada a la superficie ósea		
Grado 6: deformación	Remodelación ósea (más que formación de osteofitos). Incluye: microfractura con fibro-cartílago y reparación ósea extendiéndose a otras capas del cartílago		
Total		3	6

ANEXO II

Escalas de Valoración para el Cartílago

Tabla A

CSS (Chondropenia Severity Score), con una puntuación de 0 -100

Patelo- femoral		Compartimento medial		Compartimento lateral	
Patela		Cóndilo femoral interno		Cóndilo lateral externo	
Normal	10	Normal	10	Normal	10
Grado IA	8	Grado IA	8	Grado IA	8
Grado IB	6	Grado IB	6	Grado IB	6
Grado IIA	5	Grado IIA	5	Grado IIA	5
Grado IIB	3	Grado IIB	3	Grado IIB	3
Grado IIIA	2	Grado IIIA	2	Grado IIIA	2
Grado IIIB	1	Grado IIIB	1	Grado IIIB	1
Grado IV	0	Grado IV	0	Grado IV	0
Tróclea		Meseta tibial interna		Meseta tibial externa	
Grado IA	8	Grado IA	8	Grado IA	8
Grado IB	6	Grado IB	6	Grado IB	6
Grado IIA	5	Grado IIA	5	Grado IIA	5
Grado IIB	3	Grado IIB	3	Grado IIB	3
Grado IIIA	2	Grado IIIA	2	Grado IIIA	2
Grado IIIB	1	Grado IIIB	1	Grado IIIB	1
Grado IV	0	Grado IV	0	Grado IV	0
		Menisco interno		Menisco externo	
		Completo (100%)	20	Completo (100%)	20
		>2/3	15	>2/3	15
		1/3 – 2/3	10	1/3 – 2/3	10
		<1/3	5	<1/3	5
		No hay (0%)	0	No hay (0%)	0
Total					
Total CSS					

Tabla B

Escala radiográfica de Kellgren y Lawrence [OZLEM NISBET][RIJK]

Grado 0	sin osteofitos
Grado I	duda de osteofitos
Grado 2	pequeños osteofitos, posible con quistes y esclerosis
Grado 3	osteofitos moderados o definitivos con moderado estrechamiento de la línea articular
Grado 4	grandes osteofitos con estrechamiento de la línea articular

Tabla C
Clasificación de Outerbridge [OUTERBRIDGE]

Grado 1	no marcaje de tinta china
Grado 2	captación focal de tinta china, indica mínima fibrilación
Grado 3	parches grandes de tinta china, indica fibrilación
Grado 4	gran captación de tinta china, erosión de cartílago

Tabla D
Baremo macroscópico del cartílago. Daño cartílago macroscópico*

Valoración	Puntos
Normal	0
Superficie rugosa	1
Fibrilación y fisuras	2
Pequeñas erosiones llegan a hueso subcondral (<5 mm diámetro)	3
Grandes erosiones llegan a hueso subcondral (>5 mm diámetro)	4
Puntuación total (cuatro zonas)	0-16

Valoración macroscópica de los osteofitos*

Valoración	Puntos
Normal	0
Desarrollo ligero de osteofitos (<2 mm de crecimiento ó <20% del margen óseo)	1
Desarrollo moderado de osteofitos (2 - 4 mm de crecimiento ó 20% - 50% del margen óseo)	2
Desarrollo grande de osteofitos (>4 mm de crecimiento ó >50% del margen óseo)	3
Puntuación total (cuatro zonas)	0 – 12

Valoración macroscópica de la sinovial*

Valoración	Puntos
Normal – blanca, semitransparente, lisa, con vasos difusos pero bien definidos	0
Leve – daño focal, leve decoloración, fibrilación visible / engrosamiento, aumento vascularización	1
Media – daño difuso, decoloración ligera, fibrilación visible / engrosamiento, notable aumento de la vascularización	2
Moderada – daño difuso, decoloración intensa, fibrilación constante / engrosamiento, moderada vascularización	3
Marcada – afectación difusa, decoloración intensa, fibrilación consistente y marcada / engrosamiento, proliferación sinovial marcada con hipervascularización difusa	4
Grave – afectación difusa, decoloración grave, fibrilación consistente y grave / engrosamiento llegando a fibrosis, proliferación sinovial grave con marcada hipervascularización	5

* (Valorar cada área por separado Tibia cóndilo medial, Tibia cóndilo lateral, Fémur cóndilo medial, Fémur cóndilo lateral)

Tabla E

Escala de valoración de O'Driscoll, para valorar integración injertos osteocondrales

Características	Puntos
1. Morfología celular	
Cartílago articular tipo hialino	4
Cartílago hialino parcialmente diferenciado	2
Tejido fibroso	0
2. Integridad superficie	
Superficie lisa e intacta	3
Superficie con fibrilación horizontal	2
Superficie con fisuras 25%-100% de la profundidad del cartílago	
Interrupción profunda y muchas fibrilaciones profundas	0
3. Grosor	
100% del cartílago huésped	2
50% - 100% del cartílago normal	1
0 – 50%	0
4. Área superficial rellena con células	
100 – 75%	3
75 – 50%	2
50 – 25%	1
25 – 0%	0
5. “Clusters” de condrocitos	
No	2
<25% de las células	1
25-100% de las células	0
6. Cambios degenerativos	
Cantidad células normal, no “clusters”, tinción normal con tinción específica de PG	3
Cantidad células normal, algunos “clusters”, tinción moderada, normal con tinción específica de PG	2
Menos cantidad de células, tinción pobre	1
Se ven algunas células, sin tinción o muy ligera	0
7. Restauración del hueso subcondral	
Normal y recto	4
Ligeros cambios de contorno	2
Interrupciones grandes	1
Defecto	0
8. Integración	
Ambos lados integrados con cartílago huésped	2
Solo un lado integrado	1
Sin integración	0
Total máximo	25

Tabla F

Escala de evaluación histopatológica en estadios
 Estadio = superficie de articulación involucrada

Estadio	% de superficie implicada (superficie, área, volumen)
0	No artrosis
1	<10%
2	10 – 25%
3	25 – 50%
4	>50%

Tabla G

Clasificación propuesta por Mainil-Varlet valorando la presencia de col1 y col2

Tinción matriz col2 Intensidad	Cantidad celular col2	Col1
Baja (1-2)	Baja (1 – 2)	Ausencia (0)
Intermedia (3 – 4)	Cluster (intermedia) (3 – 4)	Presencia (1)
Alta (5 – 6)	Alta, hiper celularidad (5 – 6)	

Tabla H

ESCALA ICRS. Evaluación de la membrana sinovial [CAKE]

	Puntos
Hiperplasia de la íntima	
Solo 1 – 2 capas	0
3 - 4 capas, focal	1
>5 capas, focal	2
>5 capas, difusa	3
Infiltración de linfocitos / plasmocitos	
No	0
1 foco de infiltración	1
2 – 5 focos de infiltración	2
>5 focos de infiltración difusa	3
Fibrosis subíntima	
No	0
Ligera tinción focal de colágeno	1
Fuerte tinción focal de colágeno	2
Fuerte tinción difusa de colágeno	3
Vascularización	
0 – 2 elementos vasculares	0
3 – 4 elementos vasculares	1
5 – 8 elementos vasculares	2
>8 elementos vasculares	3

Tabla I
Sistema de evaluación histológica de la degeneración del cartílago (KIKUCHI et al)

	Puntos
Pérdida de la capa superficial	
< ligera	1
Moderada	2
Grave focal	3
Grave global	4
Erosión del cartílago	
< detectable	1
Moderada	2
grave focal	3
grave extensa	4
Fibrilación y/o fisuras	
< mínima	1
moderada (1 pequeña)	2
marcada (2 pequeña o 1 media)	3
extensa (3 pequeña, 2 media o 1 grande)	4
Pérdida de proteoglicanos (tinción safranina – O)	
< palidez tinción que el control	1
moderada pérdida tinción	2
marcada pérdida tinción	3
Pérdida completa tinción	4
Desorganización condrocitos	
Apreciable	1
Moderada, con pérdida de algunas columnas	2
Marcada pérdida de columnas	3
No se reconoce	4
Pérdida de condrocitos	
< apreciable descenso celular	1
moderado descenso celular	2
marcado descenso celular	3
descenso celular muy extenso	4
Exposición hueso subcondral	
< focal	1
Moderada	2
Grande	3
muy extensa	4
Formación de clusters	
<3-4 o 1-2 medios	1
5-6 pequeños, 3-4 medios, o 1-2 grandes	2
>7 medios o 5-6 grandes	3
>7 pequeños, 5-6 medio, 3-4 grandes	4

